

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Пущинский государственный естественно-научный институт»
(ПушГЕНИ)

На правах рукописи



МИХЕДОВА ЕЛИЗАВЕТА ЕВГЕНЬЕВНА

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МЕТОДА СОРБЦИОННОЙ
БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ
ПОЧВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

1.5.15. Экология (биологические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Васильева Галина Кирилловна

Ростов-на-Дону – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
1.ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Экологические проблемы добычи, транспортировки и переработки углеводородов в России и основных нефтегазодобывающих районах Западной Сибири.....	13
1.1.1 Экологические проблемы нефтедобычи в Российской Федерации.....	13
1.1.2 Экологические проблемы добычи жидких углеводородов в Западной Сибири.....	15
1.2 Почвенно-географические и климатические характеристики ЯНАО и ХМАО.....	20
1.3 Загрязнение окружающей среды нефтью.....	25
1.3.1 Состав и свойства нефти.....	25
1.3.2 Влияние нефтяного загрязнения на свойства почвы.....	27
1.3.3 Предельно допустимые концентрации нефти в почве.....	29
1.4 Методы восстановления земель после аварийных разливов нефти и нефтепродуктов.....	31
1.4.1 Небиологические методы ремедиации.....	33
1.4.2 Биологические методы ремедиации.....	34
1.4.2.1 Биоремедиация нефтезагрязненных почв и пути микробной деградации углеводородов нефти.....	34
1.4.2.2. Фиторемедиация нефтезагрязненных почв.....	37
1.5 Сорбционная биоремедиация нефтезагрязненных почв.....	38
1.5.1 Характеристики природных сорбентов, используемых для ликвидации последствий нефтеразливов.....	38
1.5.1.1 Минеральные сорбенты.....	38
1.5.1.2 Органические сорбенты.....	41
1.5.1.3 Углеродистые сорбенты.....	42
1.5.2 Механизмы сорбции.....	43
1.5.3 Использование сорбентов в ходе биоремедиации нефтезагрязненных почв.....	44
1.6 Выводы на основании литературного обзора.....	47
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ.....	49
2.1 Объекты.....	49
2.1.1 Характеристика почв.....	49
2.1.2 Характеристика загрязнителей.....	51
2.1.3 Характеристика биопрепарата.....	51
2.1.4 Характеристики применяемых сорбентов.....	52
2.2 Методы анализа.....	53
2.2.1 Определение суммарной концентрации углеводородов нефти и промежуточных продуктов окисления в почве.....	53
2.2.2 Определение численности углеводород-окисляющих микроорганизмов в почве.....	54

2.2.3	Определение интегральной токсичности почв	55
2.2.3.1	Экспресс-метод определения фитотоксичности почвы.....	55
2.2.3.2	Определение фитотоксичности почвы по задержке роста корня проростков высших растений.....	56
2.2.3.3	Определение биотоксичности почвы с помощью <i>Daphnia magna</i>	56
2.2.4	Определение водного рН почвы	57
2.2.5	Определение дегидрогеназной активности почвы.....	57
2.2.6	Методы статистической обработки результатов анализов.....	58
2.3	Условия проведения экспериментов	58
2.3.1	Изучение влияния сорбентов разных классов на скорость разложения углеводов и интегральную токсичность глеево-подзолистой почвы, умеренно загрязненной нефтью. Вегетационный эксперимент №1	58
2.3.2	Изучение влияния ряда сорбентов и их смесей на скорость разложения углеводов и интегральную токсичность подзола иллювиально-железистого, загрязненного разными дозами нефти.....	60
2.3.3	Апробация разработанного метода сорбционной биоремедиации минеральных почв Западной Сибири в полевых условиях	64
3.	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	66
3.1	Влияния сорбентов разных классов на скорость разложения углеводов и интегральную токсичность глеево-подзолистой почвы, умеренно загрязненной нефтью. Вегетационный эксперимент №1	66
3.2.	Влияние ряда сорбентов и их смесей на скорость биоремедиации подзола иллювиально-железистого, загрязненного разными дозами нефти	75
3.2.1.	Микрополевой эксперимент	75
3.2.2.	Вегетационный эксперимент №2	84
3.2.3.	Вегетационный эксперимент №3	87
3.3.	Апробация и экологическая оценка эффективности разработанного метода сорбционной биоремедиации минеральных почв Западной Сибири в полевых условиях.....	92
4.	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	98
	Заключение.....	105
	Список сокращений.....	107
	Список литературы.....	108
	Приложения	127

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Важной задачей экологии в современных условиях является разработка экологических методов защиты окружающей природной среды от техногенного загрязнения. Одними из основных источников техногенного загрязнения являются места добычи, переработки и транспортировки нефти и нефтепродуктов. Ежегодно в мире происходит множество аварийных ситуаций при добыче, и особенно транспортировке нефти и нефтепродуктов. Масштабные аварии происходят как на морских и речных акваториях, так и на почвах различных регионов мира. Основная часть углеводородов России добывается на территории Западной Сибири, где лидирует Ханты-Мансийский автономный округ (ХМАО) – 42,5% от общей добычи нефти в России, следом идет Ямало-Ненецкий Автономный округ (ЯНАО) (Справка о состоянии ..., 2019). В свою очередь, ЯНАО является главным регионом России по добыче газа. В связи со столь богатыми запасами углеводородов в данных районах техногенная нагрузка на природные компоненты довольно высока. Так как наиболее экономически выгодным способом транспортировки является перекачка нефти по магистральным трубопроводам, самыми распространенными проблемами являются порывы и незаконные врезки на данном типе транспорта. При одном порыве трубопровода в почвенную среду может попасть до 2 тонн нефти, что будет покрывать площадь загрязнения порядка 1000 м² (Keselman et al., 1981). По данным министерства Энергетики РФ, в 2015 году расчётная перекачка нефти по системе магистральных трубопроводов ОАО АК «Транснефть» составила более 3,8 млрд тонн, из них технологические потери составили около 1,4 млн тонн (Анализ и оценка ..., 2016). В Федеральном законе №7 "Об охране окружающей среды" указано, что необходимо *«провести после ликвидации разлива нефти и нефтепродуктов рекультивационные и иные восстановительные работы в порядке, установленном законодательством Российской Федерации»* (статья 46, пункт 14.4 Федеральный Закон №7..., 2002).

Ранее в задачах рекультивации почв основной упор был сделан на скорость рекультивации, а экологичность выбора метода очистки была не в приоритете. В интересах компаний было как можно скорее очистить участок, как правило основным методом являлся вывоз загрязненного грунта на специализированные полигоны, либо засыпка чистого грунта на поверхность загрязненного участка. Фактически вопрос очистки загрязненной почвы не решался.

Нефтяное загрязнение почв приводит к выведению обширных территорий из сельскохозяйственного использования. Эти проблемы необходимо решать качественно и быстро, соответственно часто возникает задача выбора наилучшего способа ликвидации

последствий загрязнений. На сегодняшний день экологических путей ликвидации таких аварий довольно немного. Проблема заключается в отсутствии корреляции экологичности и эффективности существующих методик. Зачастую наиболее экологичные технологии (environmental friendly) являются медленно действующими, а эффективные и быстрые технологии – не экологичными. Так, например, технология сжигания нефтезагрязненной почвы является довольно быстрой и эффективной, но при этом опасной для окружающей среды. При сжигании углеводов в атмосферу выделяются канцерогенные соединения, а также погибает флора и фауна, которые не подлежат восстановлению. При решении задач данного класса особенно важно соблюдать баланс эффективности, скорости и экологичности.

Основная часть наземных месторождений углеводородов России расположена на *Севере Западной Сибири*, где лидирует Ханты-Мансийский автономный округ – 42,5% от общей добычи нефти в России, следом идет Ямало-Ненецкий Автономный округ – главный регион России по добыче газа (Справка о состоянии ..., 2019). На их экосистемы оказывается сильная антропогенная нагрузка. Территории, занимаемые ЯНАО и ХМАО, локализованы в пределах тундрово-таежных ландшафтов. Почвенный покров в этом регионе представлен подзолистыми, болотно-подзолистыми и болотными почвами (Середина и др., 2011), которые можно разделить на почвы минеральные и органотрофные. **Минеральные почвы** – общепотребительный термин для растительно-наземных почв, не имеющих торфяного горизонта (Почвенная номенклатура..., под ред. Б.Г. Розанова, 1974). Эти почвы наименее устойчивы к нефтяному загрязнению. В Западно-Сибирской низменности минеральные почвы представлены в основном *подзолистыми почвами легкого гранулометрического состава*. Среди них наиболее распространены подзолы, иллювиально-гумусовые подзолы и поверхностно-глеево-подзолистые почвы (Добровольский, 2001). Песчаные подзолы мало обеспечены гумусом, плохо структурированы, растительность не разнообразна (Середина и др., 2011). Поэтому сохранение исходных параметров экосистем данных территорий крайне важно, а, следовательно, разработка эффективного метода сорбционной биоремедиации для минеральных почв Западной Сибири особенно актуальна.

Степень разработанности исследования. Существует множество технологий, разработанных для территорий с холодным температурным режимом (Башкин и др., 2020; Мязин и др., 2020; Фомичева и др., 2020; Окмянская 2022; Горбаев 2022; Wołejko et al., 2016; Yuniati 2018; Chaudhary et al., 2019; Ferguson et al., 2020; Korneykova et al., 2021), однако до сих пор идеальной методики восстановления этих почв не существует.

До сих пор большинство работ, посвященных биоремедиации нефтезагрязненных почв, было направлено на получение новых биопрепаратов на основании выделенных штаммов микроорганизмов-деструкторов углеводов нефти (Михедова, Абашина, 2020; Пинский и др., 2023; Wołejko et al., 2016, Yuniati 2018, Chaudhary, Kim 2019, Saha et al., 2019, Ławniczak et al., 2020). Однако, применение этого метода обычно рекомендуется только для почв с уровнем содержания углеводов не выше 5%, а следовательно применение биоремедиации мало эффективно для решения проблем ликвидации аварийных ситуаций в нефтедобывающих регионах, где концентрации углеводов нефти в почве значительно превышают указанный уровень (Аковецкий, Михедова, 2020, Abdel-Shafy et al., 2018, De la Huz et al., 2018, Ossai et al., 2019, Chaudhary et al., 2019, Nawrot-Paw et al., 2020).

В ряде аналитических обзоров, рассматривающих расширение возможностей метода биоремедиации, предлагается использование биопрепаратов на основе микроорганизмов-деструкторов, иммобилизованных на сорбентах (Артюх и др., 2014; Колотова и др., 2021; Федорова и др., 2022; Wołejko et al., 2016; Cui et al., 2020; Nawrot-Paw et al., 2020; Zamparas et al., 2020). Однако в последние годы стали появляться работы, в которых показано положительное влияние самих сорбентов на скорость биоремедиации почвенных экосистем, контаминированных нефтью и нефтепродуктами (Башкин и др., 2021; Мязин и др., 2021; Булуктаев, 2022; Zavgorodnyaya et al., 2017; Tarabukin, 2020; Myazin et al., 2020; 2021, Sayed et al., 2021, Ukra et al., 2021, Minnikova et al., 2022).

В современных реалиях набирает обороты тренд экологически чистой очистки почв. Он заключается не только в эффективном и быстром подборе методики ликвидации разлива, но также в сохранении исходного почвенного материала, растительности и животного мира. Наиболее экологичным методом решения данного класса задач является применение сорбционной биоремедиации почв, которая основана на использовании сорбентов в комбинации с приемами классической биоремедиации (Васильева и др., 1994; 2013; Vasilyeva et al., 2010; Wu et al., 2017; Saha et al., 2019; Vasilyeva et al., 2020).

В основе метода лежит активация специфических микроорганизмов-деструкторов поллютантов (аборигенных или инокулированных в виде биопрепаратов), а при очень высоком уровне загрязнения, возникающем, например, в случае нефтеразливов, требуется дополнительное внесение биофильных элементов в виде комплексных минеральных удобрений и извести для поддержания нейтральной кислотности почвы. Кроме того, при повышенной токсичности почвы вносится определенная доза натурального сорбента, который поддерживает содержание легкодоступных токсикантов в почве (как исходных соединений, так и продуктов их микробного разложения) на уровне ниже критического (Васильева и др., 2013; Vasilyeva et al., 2020; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022). Данная

технология применяется *in situ* и не требует изъятия и вывоза контаминированных почв. Очистение почвы до необходимого уровня происходит в течение относительно небольшого срока. При этом остается ненарушенным ландшафт, сохраняется аборигенная почва, ценная для чувствительных экосистем северных территорий, а за счет проведения комплекса мелиоративных мер улучшается исходное состояние почвенного покрова, стимулируется развитие аборигенной флоры и фауны. Кроме того, не происходит экскавации и вывоза токсичного грунта на специализированные площадки, нет необходимости в строительстве специализированных очистных сооружений. По оценкам А.В. Слюсаревского, данный способ является наиболее экономически привлекательным, а дополнительные затраты на закупку сорбционных материалов и оплату труда рабочих с лихвой окупаются за счет экономии средств, необходимых для экскавирования загрязненного грунта и его доставки к месту утилизации, иногда за сотни и тысячи километров (Слюсаревский и др., 2018).

В лаборатории физикохимии почв ИФХиБПП РАН был разработан метод сорбционной биоремедиации *in situ*, показавший высокую эффективность для очистки трех типов нефтезагрязненных почв, распространенных в центре Европейской части России (Васильева и др., 2012, 2013; Kondrashina et al., 2018; Vasilyeva et al., 2020). На первом этапе было показано, что внесение гранулированного активированного угля (ГАУ) в нефтезагрязненную почву, способствует ускорению микробной деградации углеводородов за счет снижения ее токсичности. В последние годы на примере почв средней полосы России, таких как серая лесная почва был *«разработан метод сорбционной биоремедиации нефтезагрязненной почвы, основанный на использовании целого ряда более дешевых природных сорбентов разных классов»* (Зиннатшина, 2019). Кроме того, было доказано, что в присутствии сорбентов резко снижается миграция подвижных и токсичных продуктов окисления углеводородов в грунтовые воды в период обработки почв (Vasilyeva et al., 2020; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022).

Однако, основная часть Российской нефти добывается в Западной Сибири, где распространены слабогумусированные минеральные почвы легкого гранулометрического состава. Из-за низкой буферности этих почв необходим особый подход при изучении возможностей метода сорбционной биоремедиации для ликвидации последствий аварийных разливов нефти на их поверхности.

Цель исследования. На примере трех типов минеральных почв Западной Сибири, умеренно и сильно загрязненных сырой нефтью, изучить механизмы положительного влияния сорбентов натурального происхождения на изменение интегральной токсичности почв и достижение допустимого уровня концентрации нефтяных загрязнителей, а также

разработать метод сорбционной биоремедиации для ликвидации последствий аварийных разливов нефти на поверхности минеральных почв нефтедобывающих регионов Западной Сибири.

Задачи исследования:

1. Провести комплексные экологические исследования в условиях вегетационного эксперимента с *глеево-подзолистой почвой*, искусственно загрязненной умеренными дозами нефти (7%), изучить влияние сорбентов натурального происхождения (углеродистые, органические и минеральные) на изменение концентрации основных нефтяных загрязнителей в почве и ее интегральной токсичности. Выявить наилучшие формы и дозы сорбентов.

2. Изучить действие *наилучших сорбентов* натурального происхождения и их смесей на изменение концентраций нефтяных загрязнителей и интегральной токсичности *подзола иллювиально-железистого*, искусственно загрязненного умеренными и высокими дозами нефти (6-13%).

3. **Определить оптимальный состав сорбентов** и дозы их внесения для ускорения процесса биоремедиации минеральных почв Западной Сибири при умеренном и высоком уровнях загрязнения: от 5 до 13% нефти.

4. **Апробировать разработанный метод** сорбционной биоремедиации с использованием композитного сорбента в полевых условиях *на литострате песчаном*, сильно загрязненном нефтью - 15%.

5. **Дать экологическую оценку** использования сорбционной биоремедиации минеральных почв Западной Сибири на основании изучения остаточных количеств загрязнителей в очищенных почвах и их интегральной токсичности.

Научная новизна работы:

1. Впервые показано, что после проведения биоремедиации минеральных почв Западной Сибири, как умеренно, так и сильно загрязненных нефтью (от 5 до 15%), несмотря на снижение суммарной концентрации углеводородов до уровня, близкого к региональным ОДК/ПДК (5–15 г/кг), почвы проявляют повышенную фито- и биотоксичность из-за накопления водорастворимых токсичных промежуточных продуктов окисления углеводородов и низкой буферности почв.

2. Доказана высокая эффективность метода сорбционной биоремедиации *in situ*, который основан на дополнительном внесении натуральных сорбентов, способствующих снижению биотоксичности почв вследствие частичной сорбции компонентов нефти и токсичных продуктов их трансформации.

3. Разработан композитный сорбент на основе торфа верхового, гранулированного активированного угля и диатомита, который наиболее эффективно влияет на скорость

процесса биоремедиации сильно загрязненных нефтью минеральных почв Западной Сибири за счет снижения их токсичности, поддержания рН почвы в оптимальном интервале и благоприятного уровня полевой влажности почвы в течение всего времени обработки, а также повышения устойчивости растений в период доочистки методом фиторемедиации.

Теоретическая и практическая значимость работы. Изучены механизмы действия натуральных сорбентов трех классов (минеральные, органические и углеродистые) на скорость биоремедиации минеральных почв Западной Сибири, умеренно и сильно загрязненных нефтью. Разработаны теоретические и практические основы метода *in situ* сорбционной биоремедиации минеральных почв Западной Сибири, загрязненных углеводородами нефти в дозе от 5 до 15%. В основе метода лежит дополнительное внесение оптимальных форм и доз натуральных сорбентов при проведении биоремедиации нефтезагрязненных почв, что существенно расширяет возможности применения метода *in situ* для очистки сильнозагрязненных минеральных почв Западной Сибири в результате обратимой сорбции токсикантов, поддержания оптимальной влажности и рН почв в течение всего процесса очистки, а также повышения устойчивости растений в условиях недостатка влаги. Разработан состав композитного сорбента, применение которого наиболее эффективно снижает интегральную токсичность сильнозагрязненных минеральных почв Западной Сибири и ускоряет достижение регионального уровня ПДК нефтяных загрязнителей в почве. Полученные результаты могут быть использованы для создания эффективной и экологичной технологии по устранению последствий аварийных разливов нефти и нефтепродуктов в нефтедобывающих регионах Западной Сибири.

Методы исследования. Проведено несколько модельных экспериментов с двумя типами минеральных почв (глеево-подзолистая и подзол иллювиально-железистый), отобранных в фоновых районах Западной Сибири, специально загрязненными нефтью в дозах от 5 до 15%: 3-х-летний микрополевой и несколько длительных вегетационных экспериментов. В ходе этих экспериментов были изучены экологические последствия использования ряда сорбентов натурального происхождения трех классов в качестве дополнительных добавок при проведении биоремедиации загрязненных нефтью минеральных почв Западной Сибири. Эксперименты по апробации метода проводили на литострате песчаном на территории ЛПДС «Западный Сургут» компании «Транснефть».

Изучалось влияние сорбентов на физико-химические и биологические свойства этих почв, загрязненных разными уровнями нефти, включая рН почвы, влагоемкость, численность углеводород-окисляющих микроорганизмов, дегидрогеназную активность, длину корней 2-х-недельных проростков растений, а также смертность и размножение гидробионтов *Daphnia magna* в почвенных вытяжках. Исследования были направлены на

поиск наиболее оптимальных форм и доз сорбентов, а также других добавок (минеральные удобрения, известкование, биопрепарат) при использовании метода биоремедиации для очистки минеральных почв Западной Сибири.

В диссертационном исследовании применялись различные **почвенно-экологические методы анализа**. **Суммарную концентрацию углеводородов нефти** определяли стандартным методом ИК-спектрометрии (ПНД Ф 16.1:2.2.22-98) в собственной модификации, позволяющей дополнительно определять концентрацию окисленных производных углеводородов (Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022). Значение **pH почвы** определяли в водной вытяжке (1:2,5) в соответствии с (Аринушкина, 1970). **Дегидрогеназную активность почвы** определяли по методике, описанной в (Хазиев, 2005). **Численность углеводород-окисляющих микроорганизмов (УОМ)** определяли методом высева почвенной суспензии на агаризованную минеральную среду, а в качестве источника углерода и энергии использовались пары дизельного топлива (Теппер и др., 2004). Для определения **интегральной токсичности почвы** использовали фитотесты, в том числе экспресс-метод определения - по всхожести семян клевера белого (*Trifolium repens* L.) (Vasilyeva et al., 2020a) и сертифицированный метод оценки фитотоксичности по задержке роста корней 2-х-недельных проростков пшеницы или ячменя (ИСО 11269-1). Кроме того, определяли биотоксичность почвы по смертности и плодовитости *Daphnia magna* в водно-почвенном экстракте (ПНД Ф 14.1:2:4.12-06; 16.1:2.3.3.9-06). **Статистическую обработку** полученных результатов проводили с использованием программ EXEL и SIGMAPLOT. Усредненные данные, полученные в каждом опытном варианте с сорбентами, сравнивали с контрольным уровнем (без сорбента) с помощью теста Стьюдента и программы STATISTICA 10. Различия считались значимыми при значении $p < 0,05$. Все образцы в модельных и микрополевым эксперименте приготавливали в 3-х повторностях.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. После проведения биоремедиации минеральных почв Западной Сибири, как умеренно, так и сильно загрязненных, несмотря на снижение суммарной концентрации углеводородов до уровня, близкого к региональным ОДК/ПДК, почвы проявляют повышенную фито- и биотоксичность из-за накопления водорастворимых и токсичных продуктов окисления углеводородов и низкой буферности почв.

2. Применение сорбционной биоремедиации *in situ* для очистки минеральных почв Западной Сибири, умеренно и сильно загрязненных нефтью (от 5 до 15%), позволяет

снизить концентрацию углеводородов нефти до допустимого уровня, а токсичность почв – до минимума в течение 1-3-х сезонов в зависимости от степени загрязнения.

3. Разработанный композитный сорбент на основе торфа, гранулированного активированного угля и диатомита наиболее эффективно повышает скорость биоремедиации сильно загрязненных нефтью минеральных почв Западной Сибири за счет снижения их токсичности, поддержания благоприятного уровня полевой влажности и pH почвы в оптимальном интервале в течение всего времени обработки и повышения устойчивости растений к стрессу.

Апробация работы. Основные результаты исследований представлены на 20 научно-практических конференциях различного уровня, в том числе 3-х международных: V Всерос. науч.-практ. конф. с межд. уч. «Безопасный Север – чистая Арктика» (13-14.04.2023, г. Сургут); Межд. молод. науч. шк. «Мониторинг, охрана и восстановление почвенных экосистем в условиях антропогенной нагрузки» (27-30.09.2022, Ростов-на-Дону); XVIII Межд. форум-конкурс студ. и мол. уч. «Акт. Пробл. Недропользования 2022» (16-20.05.2022, С.-Петербург); VII Всерос. конф. с межд. уч. «Экобиотех», посв. 70-л. УИБ УФИЦ РАН и УФИЦ РАН), (4–7.10.2021, г. Уфа.); Шк.-конф. для мол. уч., асп. и студ. «Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие» и VII Пущинская конференц. «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» (6–8.12.2021, ИБФМ РАН, г. Пущино); Межд. форум «Нефть и газ – 2021» (26-30.04.2021, М.: РГУ Нефти и газа им. И.М. Губкина); XIV Всерос. конф. мол. уч., спец. и студ. (25–28.10.2021, М.: РГУ Нефти и Газы им. И.М. Губкина,); XXVIII Межд. Конференц. студ., асп. и молодых ученых «Ломоносов-2021» (20.04.2021, М.: МГУ); XIX Всерос. конф. – Конк. студ. и асп. (12–16.04.2021, М.: РГУ Нефти и газа им. И.М. Губкина); VIII Межд. (XVI Всерос.) науч.-практ. конф. «Нефтепромысловая химия», (24.06.2021, М.: РГУ им. И.М. Губкина); Student Technical Congress 2021, (4.11.2021, Germany); Intern. youth scientific and practical conf. “Oil and gas horizons XIII” (17-19.11.2021, М.: Gubkin University).

Внедрение результатов исследования. Результаты проведенных исследований по теме диссертации были использованы в лекционных курсах и на практических занятиях в рамках дисциплины «Экология загрязненных почв» (Приложение №2).

Личный вклад автора. Данная работа выполнена по итогам исследований, проведенных соискателем в период с 2019 по 2023 гг. Соискатель лично проводила все вегетационные и микрополевые исследования и анализы образцов. Собственноручно закладывала эксперименты при апробации метода на территории ЛПДС в г. Сургут, ХМАО.

Соискатель проводила обработку данных, их графическое изображение, обобщение результатов и написание диссертации.

Публикации. Основные положения диссертационной работы изложены в 20 публикациях, в том числе: 2 статьи в изданиях, входящих в международные базы данных рецензируемой научной литературы Scopus и/или Web of Science, 1 статья в издании, входящем в перечень рецензируемых научных изданий ЮФУ и ВАК, 17 публикаций в сборниках материалов и тезисов конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, списка использованной литературы, списка сокращений и приложений. Работа изложена на 130 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц и 26 рисунков. Список литературы включает 204 источника, в том числе 103 на английском языке.

Диссертация соответствует специальности 1.5.15. Экология (биологические науки). В ней рассматриваются вопросы антропогенного воздействия на почвенные экосистемы, связанные с аварийными разливами нефти, в том числе - влияние нефтяных загрязнителей на численность и активность почвенных микроорганизмов, рост растений в загрязненной почве, а также выживаемость гидробионтов *Daphnia magna* в почвенных экстрактах. В результате дается научное обоснование технологии *in situ* сорбционной биоремедиации нефтезагрязненных минеральных почв Западной Сибири.

Благодарности. Выражаю признательность за помощь в работе научному руководителю – к.б.н. Г.К. Васильевой, всем сотрудникам лаборатории физико-химии почв ИФХиБПП РАН и лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН в ФИЦ «ПНЦБИ РАН», а также сотрудникам компании УМН АО «Транснефть-Сибирь». Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2022-1122), и Программы стратегического академического лидерства ЮФУ "Приоритет 2030".

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В условиях возрастающего антропогенного давления на окружающую среду ее защита от техногенного загрязнения является одной из приоритетных задач экологии. Особенно сильное воздействие на окружающую среду оказывается в местах добычи, переработки и транспортировки нефти и нефтепродуктов. В связи с большими объемами добычи, транспортировки и переработки нефти в Российской Федерации приоритетными поллютантами являются углеводороды нефти и сопутствующие загрязнители. Нефтяные загрязнители нарушают течение многих естественных процессов в окружающей среде, существенно изменяют уровень обитания всех видов живых организмов и накапливаются в их биомассе. Многочисленные нефтяные разливы являются привычной практикой нефтедобывающих компаний, работающих в России (Белая, 2016), тогда как темпы их рекультивации еще недостаточны. В современных условиях площадь нефтезагрязненных земель в стране превышает полторы тысячи га. Особенно важны эти проблемы для Западной Сибири – основного региона нефтегазодобычи в РФ. В связи с этим необходимо рассмотреть источники и масштабы загрязнения почвы нефтью и нефтепродуктами в РФ и, в частности, в Западной Сибири, состав нефтяных загрязнителей, их воздействие на почву и способы ликвидации аварийных загрязнений, а также найти наиболее экологичные и экономичные способы решения данной проблемы.

1.1 Экологические проблемы добычи, транспортировки и переработки углеводородов в России и основных нефтегазодобывающих районах Западной Сибири

1.1.1 Экологические проблемы нефтедобычи в Российской Федерации

Россия находится в числе стран, лидирующих по *запасам и добыче жидких углеводородов*. По данным Мин. природы РФ, на 2021 г., запасы сырой нефти достигали примерно 19 млрд т., а природного газа – 44,5 трлн м³ (Гос. Доклад ... 2022). Главным газодобывающим регионом России является ЯНАО, где ежегодно добывается более 80% российского природного газа, а основным нефтедобывающим регионом страны является ХМАО (Гос. Доклад ... 2022). Оба автономных округа относятся к территории Западной Сибири.

Пик *добычи нефти и газа* в РФ за последнее десятилетие (с 2011 по 2021 гг.) пришелся на 2019 год, когда общий объем добываемой нефти достигал 561,2 млн т. В 2020 г. из-за антиковидных мер нефтедобыча снизилась до 512,8 млн т., однако в 2021 г. добыча нефти и газоконденсата в России вновь возросла на 2,2%, а газа – на 10% по сравнению с 2020 г. и составила 524,1 млн т (Гос. Доклад ..., 2022).

По данным Центрального диспетчерского управления топливно-энергетического комплекса (ЦДУ ТЭК), в 2021 г. *объем нефтепереработки* в РФ составил более 280,7 млрд. т., что на 3,9% больше, чем в 2020 г., а производство бензина увеличилось на 6,1% и достигло 40,8 млн. т.

Процесс нефтегазодобычи сопровождается обычно *образованием значительных площадей нарушенных земель*. К ним относятся «земли, утратившие первоначальную природную, и (или) социальную ценность и (или) являющиеся источником отрицательного воздействия на окружающую среду в связи с нарушением почвенного и растительного покрова, гидрологического режима и образованием неорельефа в результате негативного воздействия антропогенных и природно-антропогенных процессов» (Доклад ..., 2022).

По данным Росстата, в процессе добычи полезных ископаемых в стране за 2019, 2020 и 2021 гг. площади нарушенных земель достигали 119,3; 101,2 и 55,7 тыс. га, соответственно. В том числе, в 2019 и 2020 гг. вследствие утечек при транзите нефти, газа и нефтепродуктов площади загрязнения территорий составили 3120 и 113 га, соответственно, а рекультивировано лишь 806 и 68 га загрязненных земель, соответственно (Васильева и др., 2016; Статистический бюллетень..., 2021).

По официальным оценкам ежегодно в результате нефтеразливов в окружающую среду на территории РФ попадает в среднем около 1,5 млн тонн нефти, что наносит ущерб около 10 млрд руб. В 2020 г. произошел крупнейший в истории РФ разлив дизельного топлива. На территории ТЭЦ-3 компании «Норильско-Таймырская энергетическая компания» (НТЭК) (дочерняя компания «Норникель») 29 мая 2020 г. произошел аварийный разлив 21 тыс. тонн дизельного топлива. Согласно данным Росприроднадзора, 6 тыс. тонн топлива попало в почву и 15 тыс. тонн – в реки Амбарная, Дадыкан и их притоки. В ходе происшествия была объявлена чрезвычайная ситуация федерального масштаба. По данным издательства Forbes (Forbes.ru. "Норникель выплатил рекордный штраф за экологическую катастрофу в Арктике"), компания «Норникель» выплатила рекордный штраф в 146 млрд руб. в качестве компенсации ущерба водным объектам, и 684,9 млн руб. - почвам.

Из наиболее крупных аварийных разливов нефти и нефтепродуктов РФ в 2021 г. можно выделить следующие (Terра-Ecology.ru. "Самые громкие разливы нефтепродуктов в 2021 г.").

- В порту г. Новороссийска 07 августа 2021 г. при загрузке танкера Minerva Symphony произошел залповый выброс сырой нефти из-за разгерметизации оборудования на платформе, в результате чего была загрязнена территория в 80 кв. км, а ущерб окружающей среде составил около 4,5 млрд руб.

- На р. Колва (респ. Коми) 11 мая 2021 г. из-за разгерметизации напорного нефтепровода Ошского месторождения произошел разлив 90 т. нефти на береговую линию реки и 9 т. – в ее акваторию, рассчитанный ущерб акватории составил 374 млн руб., а почве – 130 млн руб.
- В г. Туапсе 24 мая 2021 г. из-за незаконной врезки в канализационный коллектор одним из транспортных предприятий Туапсинского района произошел разлив нефтезагрязненных стоков на площади 1,1 млн кв. м., а ущерб составил 70 млн руб.
- На р. Волхов (Новгородская область) 26 марта 2021 г. в результате демонтажа и списания старого судна, содержащие моторное масло элементы, размещенные на территории порта зимой, весной оттаяли, и масло вытекло на прибрежную зону реки, где сформировался загрязненный участок длиной в 20 км и шириной до 15 м. Ущерб составил 17 млн руб.
- В порту г. Тамань, 14 сентября 2021 г. произошел разлив мазута, который покрыл масляной плёнкой 450 м² водной поверхности шириной около 5 км от береговой линии, ущерб составил 6 млн руб.

Однако, основная часть нефтеразливов в стране происходит в результате порывов и незаконных врезок на нефтепроводах. Использование трубопровода является наиболее экономически выгодным способом транспортировки жидких углеводородов по суше. В России проложена обширная трубопроводная сеть, по которой углеводороды транспортируются от места добычи к месту переработки и далее к потребителям. В последние годы аварийность на нефтепроводах постепенно снижалась. По данным Мин. энергетики РФ, в 2021 г. на магистральных трубопроводах было зарегистрировано на 32,7% меньше, чем в 2020 г., и на 59,8% меньше, чем в 2012 г. Тем не менее, число таких аварий все еще остается очень высоким. Из более чем 10 тыс. порывов, зарегистрированных в 2021 г., 5,9 тыс. случаев зафиксировано на нефтепроводах, в том числе 93% инцидентов произошло из-за коррозии металла. Всего за 2021 г. из-за порывов нефтепроводов было потеряно 94 тыс. т нефти (Гос. Доклад ... 2022). В среднем, при одном порыве трубопровода на почву выливается 2 т. нефти и загрязняется около 1000 м² поверхности суши (Kesselman et al., 1981).

1.1.2 Экологические проблемы добычи жидких углеводородов в Западной Сибири

Западная Сибирь — это обширный регион, расположенный на западе Сибирской равнины в Российской Федерации, который имеет огромные запасы нефти и газа. Добыча этих природных ресурсов в регионе является важной составляющей его экономики и играет ключевую роль в энергетической отрасли страны. Регион богат запасами нефти, которые

добываются на многочисленных месторождениях. Некоторые из самых крупных месторождений включают Самотлорское, Талаканское, Уренгойское и другие. Западная Сибирь является одним из ключевых регионов России по добыче нефти. Ежегодно в регионе добывается миллиарды баррелей нефти. Также в регионе располагаются огромные запасы природного газа. Некоторые из крупнейших газовых месторождений включают Южно-Русское, Бованенковское, Уренгойское и другие.

Площадь Западной Сибири примерно 2,45 млн. км². Западная Сибирь включает в себя следующие субъекты Российской Федерации: Республику Алтай, Алтайский край, Кемеровскую, Новосибирскую, Омскую, Томскую и Тюменскую области, Ханты-Мансийский автономный округ (ХМАО) и Ямало-Ненецкий автономный округ (ЯНАО). В «Западной Сибири выявлено свыше 20 тыс. га земель, загрязненных нефтью с толщиной слоя не менее 5 см» (Белозерцева, Гранина, 2015).

Однако основная часть углеводородов добывается на территориях ЯНАО и ХМАО.

Суммарная площадь этих субъектов РФ составляет около 1,3 млн км²: 769,3 и 534,8 тыс. км² соответственно.

Добыча газа в ЯНАО сопровождается рядом экологических проблем, связанных с негативным влиянием на окружающую среду. Строительство инфраструктуры для газодобычи, включая скважины и трубопроводы, приводит к значительному нарушению природной среды, разрушению экосистем. Леса и тундра подвергаются вырубке, а почва подвергается экологическому разрушению. Это приводит к снижению биоразнообразия и уничтожению мест обитания для растений и животных.

Технологические процессы добычи газа требуют значительного использования воды. Большие объемы воды используются для гидроразрыва пласта и процессов очистки газа. Это может привести к истощению водных ресурсов и снижению уровня грунтовых вод. Возможны также загрязнение водоемов из-за несанкционированных выбросов промышленных отходов и химических веществ.

ЯНАО является одним из крупнейших добывающих регионов газа в России. Ежегодно здесь добывается около 80% всей газовой продукции страны. Общий объем добычи газа в регионе составляет десятки миллиардов кубометров. В этом регионе расположены значительные запасы природных ресурсов, и добыча играет важную роль в экономике региона и всей страны. По данным на 2021 год, в ЯНАО «добыча нефти в регионе составила 36,1 млн. тонн, газа – 617,5 млрд. м³, конденсата – 27,8 млн. тонн.» (Официальный сайт правительства ЯНАО...).

Однако основные экологические проблемы возникают на территории ХМАО, где располагаются богатейшие нефтяные месторождения. В «Ханты-Мансийском

автономном округе загрязненные площади занимают десятки тыс. га. Максимальное загрязнение отмечено в районе Средней Оби (Нижневартовско-Самотлорский промышленный узел), где сосредоточена основная добыча нефти в Западной Сибири» (Доклад ..., 2022). Среди них особенно выделяется Самотлорское месторождение, которое по предполагаемым запасам (7,1 млрд т.) занимает 6-е место в мире (Белозерцева, Гранина, 2015). Кроме того, на территории округа имеется Ромашкинское, Приобское, Лянторское и Федоровское месторождения с предполагаемым суммарным запасом нефти 13,8 млрд т.

На территории ХМАО добывается 41,2% от общего объема добываемой в РФ нефти. За период с 2011 по 2019 г. ежегодная добыча нефти в округе медленно снижалась с 262 до 236 млн т., а в 2020 г. она упала до 211 млн т, но к 2021 г. нефтедобыча вновь возросла до 216 млн т. Лидерами по нефтедобыче в ХМАО являются компании ПАО «НК «Роснефть», ПАО «Сургутнефтегаз», ПАО «Лукойл», на долю которых приходится 78,7% добываемой там нефти. С начала разработки месторождений нефти (с 1964 г.) общая добыча нефти в этом регионе к 2022 г. превысила 12,1 млрд тонн (Доклад ..., 2022).

На территории ХМАО функционируют 6 нефтеперерабатывающих предприятий, на которых за 2021 г. было переработано около 6,2 млн т. нефти (Доклад..., 2022). Кроме того, по его территории проходит около 116 тыс. км трубопроводов нефтегазодобывающей отрасли. Из них 16,4 тыс. км – магистральные и еще более 50 тыс. км – промысловые и межпромысловые нефтепроводы. Там проложены такие крупные нефтепроводы, как: Нижневартовск – Анжеро-Судженск – Иркутск; Сургут – Полоцк; Нижневартовск – Самара и Усть-Балык – Омск. За период 2020–2021 гг. на трубопроводах ХМАО были выявлены многочисленные экологические нарушения. Например, 12 марта 2020 г. на магистральном газопроводе компании ООО «Газпром Трансгаз Югорск» произошла разгерметизация трубопровода с последующим взрывом, ущерб от аварии превысил 7,7 млн руб. В том же году было выявлено 26 аварийных происшествий на трубопроводах компании АО «Самотлорнефтегаз» (Доклад ..., 2022). В 2021 г. на территории Югры зарегистрировано 942 аварии, из которых более 68% инцидентов - на нефтепроводах. На рис. 1 представлены фотографии на местах аварийных разливов нефти в ХМАО.

Основной причиной аварий (в 94% случаев) является коррозия металла, которая происходит в основном вследствие эксплуатации трубопроводных конструкций сверх нормативного срока (Доклад ..., 2022).

На территории ХМАО наибольший вред окружающей среде наносит деятельность компаний топливно-энергетического комплекса (ТЭК), связанная с добычей и транспортировкой жидких углеводородов: нефти и газового конденсата. К началу 2022 г. в ХМАО зарегистрировано 592 лицензионных участка, на которых производилась разведка и

добыча углеводородного сырья. В связи с высоким риском загрязнения окружающей среды, компании ТЭК находятся под наибольшим экологическим контролем межрайонной природоохранной прокуратуры. Значительное внимание уделяется охране лесного хозяйства, растительного и животного мира, водных объектов, атмосферного воздуха и почвенного покрова.



Рис. 1 Фото разливов в регионе ХМАО (авторское фото).

По данным Мин. Природнадзора ХМАО-Югра, за 2021 год из 942 аварийных случаев на нефтепромысловых трубопроводах региона, 644 инцидента произошло на

нефтепроводах, 280 – на водоводах и 16 – на газопроводах. При этом было загрязнено 84,7 га земель, на которые вылилось 1634 тонны нефти и других загрязняющих веществ. В 2020 г. в данном регионе произошло 1332 аварийных случаев, а площадь за загрязнения составила 111,9 га. В среднем, во время каждого аварийного разлива в почву попадает порядка 32,5 кг нефти и загрязняется около 377 м² земной поверхности (Доклад ..., 2022).

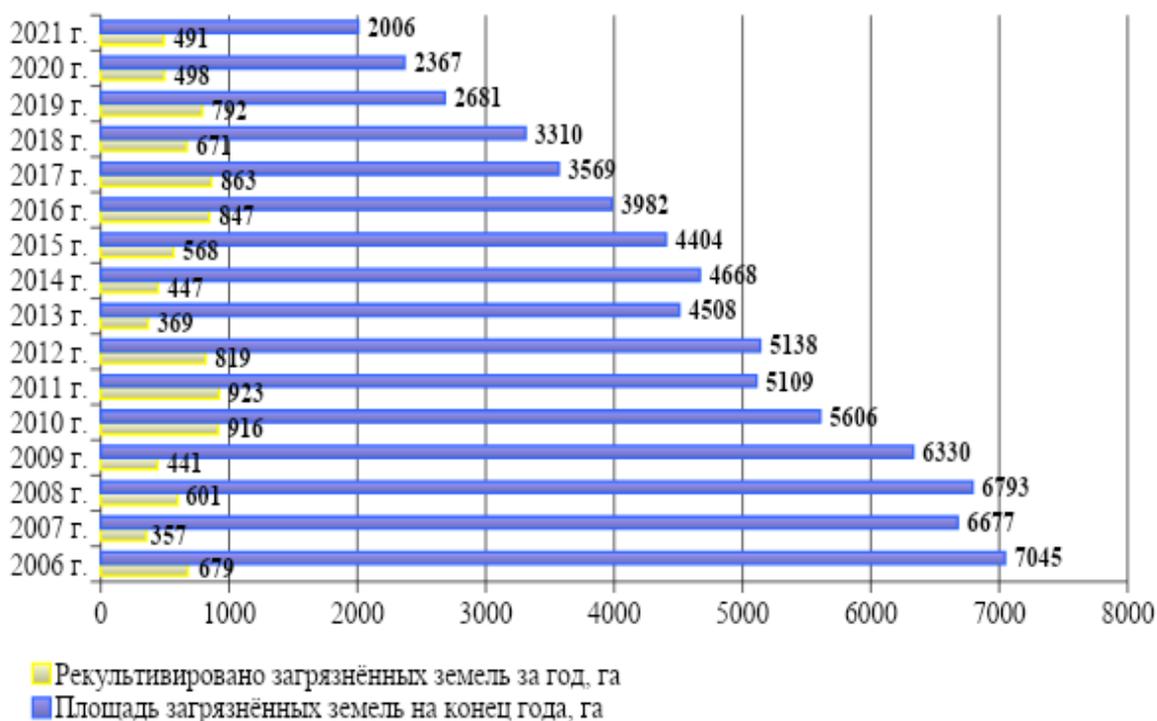


Рис. 2 Площадь загрязненных и рекультивированных земель с 2006 по 2021 годы в регионе ХМАО (Доклад ..., 2022).

За последние 15 лет (с 2006 по 2021 гг.) зарегистрированная площадь загрязненных земель в ХМАО постепенно снижалась: с 7045 до 2006 га, но ежегодная площадь рекультивируемых земель колебалась в пределах 357–923 га, и таким образом доля рекультивируемых земель постепенно возрастала. Однако в 2021 г. доля рекультивируемых земель все еще не превышала 25% от всей загрязненной территории (рис. 2). Таким образом, на начало 2021 г., в реестр загрязненных почв внесено более 10 тыс. загрязненных участков общей площадью около 2006 га, из которых 1659 га (82,7% от всей площади) загрязнено нефтью и нефтепродуктами (Доклад ..., 2022).

Ежегодно, на территории ХМАО, проводится локальный экологический мониторинг почв в границах лицензионных участков недр. По данным мониторинга в период с 2011 по 2021 год, среднее содержание углеводородов нефти в почве этих участков колебалось в пределах от 326 до 638 мг/кг.

Как показывает статистика, более 90% аварийных случаев на трубопроводах происходит из-за коррозии металлических труб, поэтому для проектирования,

строительства и эксплуатации разработан ряд специальных мероприятий для снижения наносимого ущерба окружающей среде. К *«таким мероприятиям относятся нанесение защитных пленок на поверхность металла (лаки, краски, эмаль, другие металлы), грунтовка и фосфатирование, а также применение ингибиторов коррозии»* на трубопроводах (Привалова, 2017).

С развитием промышленности возрастает техногенная нагрузка на компоненты окружающей природной среды. Территория ХМАО расположена в суровых климатических условиях, флора и фауна, населяющая данный регион, крайне чувствительна к любому антропогенному воздействию. В связи с этим любое вмешательство человека в целостность окружающей среды может привести к серьезным нарушениям экосистемы. Строительство новых объектов нефтегазодобывающей промышленности, прокладка трубопроводов, развитие дорожной инфраструктуры, все это в общем приводит к нарушениям компонентов окружающей среды.

Основные техногенные факторы негативного действия нефтегазодобывающей промышленности на природные компоненты обусловлены механическим воздействием на почвы и нарушением растительности; загрязнением поверхностных и подземных вод; загрязнением снежного покрова и атмосферного воздуха; образованием токсичных сточных вод и загрязнением почв и донных отложений (Mikhedova, Uzorina, 2021).

Немаловажную роль в жизни региона играет развитие сельского хозяйства, которое должно обеспечивать населения продовольствием. Физико-географические и климатические условия региона ХМАО-Югра (холодный климат, короткое лето, подтопление и бедные почвы) довольно непросты и не слишком приспособлены для широкого развития сельскохозяйственной отрасли. Тем не менее, сельскохозяйственная промышленность в регионе развивается, однако значительным препятствием ее развитию в регионе является деятельность топливно-энергетического комплекса - ТЭК.

1.2 Почвенно-географические и климатические характеристики ЯНАО и ХМАО

В связи с тем, что наибольшее количество жидких углеводородов добывается на территории Западной Сибири, а именно в Ямало-Ненецком и Ханты-Мансийском автономных округах, в данной работе исследуется именно эти регионы. Территория ЯНАО находится на севере Западной Сибири, а южнее к ней примыкает территория ХМАО.

Западно-Сибирская равнина имеет разнообразный *рельеф* с низменностями и возвышенностями высотой от 250 до 285 метров. Равнина делится на Северную и Южную котловины Сибирскими увалами высотой 160–180 метров. Нижнеобская и Среднеобская

котловины представляют собой низменные равнины с небольшими приподнятыми краями. Река Обь протекает через широкое понижение, соединяющее обе котловины. В районе Нижней Оби преобладают многоозерные низменности. Геоморфологический состав региона включает водораздельные плато и речные долины. Такое строение региона образовалось в результате эрозии около 10 тысяч лет назад. В настоящее время рельеф плато стабилен, в то время как долины широки и террасированы. Поверхность севера Западной Сибири ограничена возвышенностями и связана с мерзлотными и карстовыми процессами.

В Западной Сибири *распространение вечной мерзлоты* проявляется в ее зональности, где характерны низкие температуры на севере от Полярного круга и прерывистое распространение с более теплыми температурами на юг от него. Мощность вечной мерзлоты также уменьшается от севера к югу, где в зоне тайги она имеет более мелкую толщину, в то время как на южной границе зоны тундры имеется глубоко залегающий слой реликтовой вечной мерзлоты. Этот слой простирается к югу от Полярного круга и образует второй слой вечной мерзлоты от широты Полярного круга до 61–62° с.ш., а к югу от этой широты существует только изолированный глубоко залегающий слой вечной мерзлоты с более теплой температурой (Шполянская, 1981).

Территория ЯНАО занимает около 0,8 млн квадратных км и находится между 61 и 73° северной широты и 60° и 84° восточной долготы. Эта область полностью расположена в Западно-Сибирской равнине - одной из самых больших на планете. Значительное расстояние север-юг (более 12°) и плоский ландшафт определили зональное распределение основных природных географических зон лесотундры и леса. Однако границы между этими зонами нечетко выражены из-за широкого распространения болот (Атлас Ямало-Ненецкого автономного округа. - Омск: ФГУП «Омская картографическая фабрика», 2004. - 303с.).

Почвенные условия. Согласно почвенно-географическому районированию России описываемая **территория ЯНАО** расположена в подзоне глеево-слабоподзолистых иллювиально-гумусовых почв центральной области бореального (умеренно-холодного) пояса (Атлас Ямало-Ненецкого автономного округа. - Омск: ФГУП «Омская картографическая фабрика», 2004. – 303 с.).

На рис. 3 показан профиль *глеево-подзолистой почвы*. Наиболее характерной особенностью почвенного покрова является очень высокая комплексность почвенного покрова. Даже на очень близких расстояниях отмечается частая смена почвенных разностей в связи с большой изменчивостью состава поверхностных отложений, разнообразием форм рельефа и условий увлажнения грунта (Попов, 2016).



Рис. 3 Профиль глеево-подзолистой почвы

В почвенном покрове лесотундры наибольшие площади занимают *тундровые* и *болотные почвы*. Широкое распространение болотных почв обусловлено низкой энергообеспеченностью территории, преобладанием осадков над испарением, слабой расчлененностью рельефа и плохим дренажем. В условиях избытка водозастойной влаги возникает сильное оголение минеральной толщи, что способствует также достаточно активному процессу торфонакопления. При этом преобразование органического вещества замедлено.

Для почвенного покрова ЯНАО характерна низкая скорость биохимических процессов и господство мерзлотных процессов трансформации почвогрунта. В них отмечается слабая дифференциация профиля на генетические горизонты и наличие признаков криогенной деформации и оструктуренности, а также накопление грубых органических остатков. В этих почвах глубина распространения процессов почвообразования определяется глубиной проникновения положительных температур, а не глубиной проникновения влаги, а следовательно развитие биохимических процессов, с которыми связано почвообразование, происходит только в верхних прогреваемых слоях (Булдович, 2012).

Климат района резко континентальный, для него характерна продолжительная суровая зима, короткое прохладное лето, переходные периоды – осень и весна – также непродолжительны по времени с резкими изменениями и колебаниями температуры воздуха, как в течение месяца, так и в течение суток.

Среднегодовая температура воздуха – $-7,8^{\circ}\text{C}$ с перепадами температур от $+34$ до -56°C . Среднемесячная температура воздуха варьирует от $+14,5^{\circ}\text{C}$ (в наиболее теплом -

июле) до $-25,7^{\circ}\text{C}$ (в наиболее холодном - январе). Средняя продолжительность безморозного периода составляет около 88 дней, который длится от второй декады июня до второй декады сентября.

В этот период погоду формируют атлантические воздушные массы, которые приносят облачную и дождливую погоду с осадками, достигающими максимума в августе (Сайт Правительства ЯНАО, раздел Общие сведения о регионе / География Ямала). Регион относится к зоне избыточного увлажнения. Среднее годовое количество осадков составляет 531 мм. Основное количество осадков выпадает на данной территории с апреля по октябрь. Максимум осадков наблюдается в сентябре – 72 мм, минимум в феврале – 19 мм.

Растительность. Характерной особенностью лесотундры – переходной зоны между зонами тундры и тайги – является мозаичное сочетание участков редколесий, кустарниковых тундр и болот.

Севернее лесотундра постепенно переходит в тайгу. С редкими деревьями высотой 10-12 м, без подлеска. Традиционные для этих мест деревья: ель, сосна, бородавчатая береза, осина, сибирская пихта.

Территория ХМАО находится между 580 и 66° с. ш. и 590 и 86° в. д., ее площадь – 534,8 тыс. км. Общая протяженность внешних границ округа достигает 4750 км. В масштабах России удельный вес территории ХМАО – 3,06%, а по численности населения <0,8%, однако округ очень богат своими природными ресурсами. На этой территории в условиях уязвимой и экстремальной арктической среды сосуществуют два противоположных направления хозяйственной деятельности: разрабатываются богатейшие запасы недр и одновременно осуществляется традиционное природопользование коренных малочисленных народов Севера. За последние годы, интенсивное промышленное освоение территории в округе привело к образованию значительных очагов загрязнения и деградации природной среды.

Рельеф региона разнообразен и включает западносибирскую равнину, северные высоты Западной Сибири и реку Обь с ее притоками. В округе присутствуют леса, болота, реки, озера и горные массивы. Грунты в основном состоят из песчаных грунтов и легких суглинков, а в прирусловых участках дренированы. Долины рек покрыты темнохвойными лесами, а верховья заболочены. В центральной части округа есть болотные массивы и гряды, покрытые растительностью. В общем, ХМАО имеет разнообразный рельеф и ландшафты. (Атлас Ханты-Мансийского автономного округа–Югры ... 2005).

Почвенные условия. Согласно почвенно-географическому районированию Тюменской области, территория относится к Западно-Сибирской таежно-лесной области. В пределах

области территория относится к зоне северо- и среднетаежных почв. В зависимости от условий почвообразования выделено пять основных типов почв в соответствии с классификационными схемами (Классификация и диагностика почв России..., 2004). Из них к минеральным почвам относятся *подзолы иллювиально-железисто-гумусовые* - почвенный разрез показан на рис. 4. Они формируются на наиболее дренированных участках в долинах рек, которые сложены супесчаными и песчаными почвообразующими породами. Для них характерна повышенная аккумуляция в иллювиальном горизонте органо-минеральных соединений железа, аллювия и фульватного гумуса (Атлас Ханты-Мансийского округа ..., 2005).



Рис. 4 Профиль подзола иллювиально-железистого (Атлас ХМАО..., 2005).

Климатические особенности. Зима суровая и продолжительная с устойчивым снежным покровом, лето короткое и сравнительно тёплое. Для переходных сезонов (весна, осень) характерны поздние весенние и ранние осенние заморозки. Средняя температура января по округу колеблется в пределах 18–24°C. Наиболее низкие температуры воздуха (до 60–62°C) были зарегистрированы в долине реки Вах в Нижневартовском районе. Продолжительность периодов: с отрицательной температурой воздуха 7 месяцев (октябрь – апрель); с устойчивым снежным покровом 180–200 дней (октябрь – май). До середины июня нередки заморозки. Самый тёплый месяц июль характеризуется средними температурами от 15,0°C (на СЗ округа) до 18,4°C (на ЮВ округа). Абсолютный максимум – 36°C.

Климат в регионе умеренно-холодный с избыточным увлажнением. Для него характерно короткое жаркое лето и суровая зима с сильными ветрами, поздние весенние и ранние осенние заморозки, неравномерное распределение осадков. Среднегодовая температура воздуха $-1,9^{\circ}\text{C}$. Самый теплый месяц – июнь (среднемесячная температура $+18,2^{\circ}\text{C}$), самый холодный – январь (среднемесячная температура $-34,9^{\circ}\text{C}$). Устойчивый переход средней суточной температуры через 0°C отмечается в конце апреля – начале мая. Продолжительность безморозного периода - около 98 дней. По гидролого-климатическому районированию территория находится в зоне избыточного увлажнения.

Растительность. Территория ХМАО включает леса, болота, луга, водоемы и горные тундры. Леса в округе занимают 52,1%, преобладает зона средней тайги с различными типами лесов, такими как темнохвойные, светлохвойные, мелколиственные и смешанные леса. В округе образуются различные лесные формации, включая сосновые лишайниковые редкостойные леса, березовые и сосново-березовые зеленомошно-кустарничковые леса. Древесная растительность представлена сосной, кедром, березой и другими видами. Болота характеризуются травянистыми видами, моховым покровом и лишайниками. В округе произрастает более 800 видов растений, включая кедр, ель, лиственницу, сосну, березу и различные травы (Атлас ..., 2005).

1.3 Загрязнение окружающей среды нефтью

1.3.1 Состав и свойства нефти

Нефть представляет собой горючую маслянистую жидкость, состоящую главным образом из смеси различных углеводородов, а также некоторого количества смол и асфальтенов. По физическому состоянию нефть — это раствор газообразных и твердых углеводородов и их производных в жидких углеводородах (Васильева и др., 2013.).

Плотность нефти колеблется в пределах $0,73-0,98 \text{ г/см}^3$. По плотности (г/см^3) нефти подразделяют на: очень легкие ($<0,80$), легкие ($0,80-0,84$), средние ($0,84-0,88$), тяжелые ($0,88-0,92$) и очень тяжелые ($>0,92$).

По вязкости ($\text{мПа}\cdot\text{с}$) они делятся на: маловязкие (<5), повышенной вязкости ($5-25$) и высоковязкие (>25).

По содержанию парафинистой фракции нефти делятся на малопарафинистые ($<1,5\%$), парафинистые ($1,5-6\%$) и высокопарафинистые ($>6\%$).

По содержанию серы, нефти подразделяют на малосернистые ($<0,5\%$), сернистые ($0,5-2\%$) и высокосернистые ($>2\%$).

Химический состав нефти. Соединения сырой нефти — это сложные вещества, состоящие из 5 элементов – С, Н, S, О и N, содержание которых колеблется в диапазонах

82–87% (С), 11–15% (Н), 0,01– 6% (S), 0–2% (O) и 0,01–3% (N). В небольших количествах присутствуют хлор, йод, фосфор, мышьяк и другие элементы. (Методы переработки нефти ...2010)

В состав **углеводородов нефти** входят: алканы (парафиновые УВН), циклоалканы (нафтеновые УВН) и арены, в том числе моно- и полиарены – полициклические ароматические углеводороды (ПАУ).

Алканы (син. парафины), имеющие общую формулу C_nH_{2n+2} , относительно стабильны и неактивны в химических реакциях, тогда как олефины (C_nH_{2n}) и ацетилены (C_nH_{2n-2}) обладают высоким уровнем химической активности. Такие вещества, как неорганические кислоты, хлор и кислород, вступают в реакцию с ними, создавая простые связи между атомами углерода. Благодаря своей высокой реакционной способности, олефины и ацетилены встречаются редко в природной нефти. Молекулы с двойными и тройными связями создаются в процессе крекинга, при котором водород удаляется из парафиновых углеводородов в ходе деструкции последних в условиях высоких температур. (Методы переработки нефти ...2010).

Циклоалканы (также известны как циклопарафины и нафтены) являются важной составляющей нефти. Они обладают таким же соотношением атомов углерода и водорода, как и олефины. В сравнении с олефинами, циклоалканы менее реакционноспособны, но более активны, чем парафины с открытой углеродной цепью. Они часто являются основным компонентом низкокипящих дистиллятов, таких как бензин, керосин и лигроин, которые получают из сырой нефти. (Методы переработки нефти ...2010).

Арены – это вид углеводородов, имеющие циклическую структуру и содержащие в своем составе от одного до нескольких ароматических колец. Они подразделяются на моноароматические и полиароматические, которые, в свою очередь, относят к самым опасным компонентам нефти из-за своей токсичности и канцерогенных свойств. (Методы переработки нефти ...2010).

Благодаря гидрофобной природе, ПАУ устойчивы к биодegradации и могут накапливаться в окружающей среде. Таким образом, ПАУ представляют собой долгосрочную угрозу экосистеме и ее обитателям. Стойкость ПАУ в окружающей среде зависит от физических и химических свойств компонентов, их концентрации и доступности микроорганизмам. Соединения ПАУ, в ходе метаболизма превращаются в высокорепактивные эпоксиды (Chauhan et al., 2008).

Обладая повышенной липофильностью, ПАУ способны накапливаться в тканях млекопитающих. Несколько эпидемиологических исследований подтвердили, что контакт с ПАУ приводит к повышенному риску развития у людей онкологических заболеваний.

Наиболее сильный канцерогенными и мутагенными свойствами обладают бенз(а)пирен и некоторые другие 5- и 6-ядерные представители ПАУ. Канцерогенность ПАУ в основном обусловлена некоторыми из их метаболитических промежуточных продуктов (таких как эпоксиды и фталаты) (Sharma et al., 2021).

Многие ПАУ обладают токсичностью и способны вызывать цитогенетические повреждения. Наибольшим токсическим действием из компонентов ПАУ обладает нафталин. Он легко всасывается в ткани печени, почек и легких, тем самым проявляя свою токсичность. Нафталин также может привести к гемолитической анемии и относится к ингибиторам митохондриального дыхания (Samanta et al., 2002).

Наряду с углеводородами в нефтях присутствует некоторое количество кислород-, азот- и серо-содержащих органических соединений (Белозерцева, Гранина, 2015).

Смолы и асфальтены представляют собой сложные высокомолекулярные соединения. Смолы – вязкие, похожие на мазь вещества, асфальтены – вещества твердые, нерастворимые в низкомолекулярных углеводородах. В зависимости от содержания смол и асфальтенов выделяют следующие нефти: малосмолистые (1–10%); смолистые (15–26%) и высокосмолистые (17–40%) (Белозерцева, Гранина, 2015).

1.3.2 Влияние нефтяного загрязнения на свойства почвы

При нефтяном загрязнении происходят значительные качественные и количественные изменения основных параметров химического состояния почв, что на многие годы приводит к потере плодородия (Белозерцева, Гранина, 2015). «В ландшафтах Ханты-Мансийского автономного округа отмечается длительная сохранность углеводородов во всех природных компонентах. В подзолистых почвах за 12 месяцев закрепляется около 10–15 % нефтепродуктов (Белозерцева, Гранина, 2015).

Пропитывание нефтью почвенной массы приводит к активным изменениям в химическом составе, свойствах и структуре почв, что прежде всего сказывается на гумусовом горизонте (Белая, 2016). При нефтяном загрязнении происходит перестройка всего почвенного профиля. Загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами способствуют изменению биологических, физико-химических и морфологических характеристик почв. Нефтяное загрязнение нарушает цикл превращения органических веществ в почве в результате подавления жизнедеятельности микроорганизмов, воздействует на ферментативную активность, приводит к изменению гумусового состава почв и ухудшению азотного режима (Андреева, 2005; Терпелец и др., 2016).

Токсичность нефти зависит от соотношения в ней легких и тяжелых фракций. Легкие фракции более токсичны, но их влияние кратковременно из-за улетучивания и способности разлагаться почвенными микроорганизмами. Тяжелые фракции нефти устойчивы и малоподвижны, поэтому длительно сохраняются в почве. Высокомолекулярные смолы, асфальтены и парафины обладают цементирующими свойствами, они закупоривают поры и каналы почвы и склеивают почвенные частицы. Таким образом, они препятствуют влагообмену и ухудшают водно-физические свойства почвы, что приводит к оглеению почвы, т.е. трансформации почвенной массы в результате постоянного переувлажнения в анаэробных условиях. Тяжелые фракции нефти снижают доступность влаги для корневой системы растений (Байчоров, 2020).

Нефтяные углеводороды угнетающе действуют *на почвенную биоту и растения*: подавляют всхожесть семян, рост и развитие растений, снижают их фотосинтетическую активность, подавляют размножение микроорганизмов, приводят к гибели почвенных беспозвоночных животных, играющих важную роль в формировании гумусового горизонта. (Середина и др., 2006).

В результате нефтяного загрязнения происходит *изменение состава почвенных микроорганизмов*. При низком и умеренном уровне загрязнения почвы наблюдается повышение численности и активности почвенных углеводород-разлагающих микроорганизмов, которые способны использовать углеводороды нефти в качестве ростовых субстратов. Со временем общая численность микроорганизмов вновь снижается до фонового уровня, однако доля нефтеокисляющих бактерий и микромицетов еще длительное время остается повышенной (Другов, Родин, 2007; Васильева, 2013; Liang et al., 2008). Под действием нефтяного загрязнения изменяется видовой состав как бактериальной микрофлоры, так и микромицетов. В умеренно загрязненной почве обычно повышается численность углеводород-разрушающих бактерий родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* и *Microbacterium*, и др., а также углеводород-разлагающих микромицетов, принадлежащих к родам *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* (Киреева, Галимзянова, 1995).

Показано, что помимо самих углеводородов нефти, для почвенной микрофлоры значительную токсичность могут оказывать промежуточные продукты окисления углеводородов: алифатические и ароматические спирты, альдегиды, кислоты и др., которые обладают повышенной водорастворимостью по сравнению с исходными углеводородами, а, следовательно, и большей доступностью для почвенной биоты (Vasilyeva et al., 2020; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022).

Под влиянием нефти и нефтепродуктов происходит замедление *развития растений* в результате хлороза и некроза их побегов, нарушаются функции дыхания, что обусловлено действием токсичных компонентов нефти, ухудшением поступления воды, снижением поступления кислорода, изменением химического состава почвы (Андреева, 2005). Гидрофобные частицы нефти и нефтепродуктов резко снижают доступность влаги растениям, что приводит к их ингибированию и гибели (Садовникова и др., 2008; Середина и др., 2006). В результате, нефтяное загрязнение приводит к сильным перестройкам структуры растительного покрова и снижению его видового разнообразия (Кураков, 2006; Садовникова и др., 2008).

В свою очередь, уничтожение растительного покрова, может привести к смене пастбищ или путей миграции животных (Геннадиев, 2015). Разлитые нефтепродукты провоцируют массовую гибель почвенной мезофауны: через три дня после аварии большинство видов почвенных беспозвоночных полностью исчезает. Углеводороды являются также постоянным источником канцерогенного и мутагенного воздействия на человека.

Загрязнение почвы влечет за собой загрязнение подземных вод в местах прохождения аварийного трубопровода, ухудшение условий обитания микроорганизмов (Белая, 2016).

1.3.3 Предельно допустимые концентрации нефти в почве

Хотя нефть и нефтепродукты являются наиболее распространенными загрязнителями почвы в РФ и других странах, в нашей стране до сих пор не установлены предельно допустимые концентрации (ПДК) этих загрязнителей. В большинстве регулирующих документов, уровень загрязнения почвы оценивается по суммарному содержанию углеводородов нефти (УВН). Иногда учитывается также содержание полициклических ароматических углеводородов как наиболее опасных компонентов нефти (Зиннатшина, 2019).

В западноевропейских странах верхний безопасный уровень содержания нефтепродуктов в почве обычно составляет 1,0 г/кг. Однако ПДК часто зависит от назначения территории. В Германии выделяют ПДК для уровня суммы УВН в почвах (г/кг) трех зон: водоохраных зон и заповедников (0,3); речных долин и водоразделов (3,0), остальные (5,0) (Васильева и др., 2013). В Нидерландах существуют три уровня ПДК (г/кг): фоновый (<0,5), повышенный (1,0-5,0) и высокий (>5,0). При высоком уровне загрязнения рекомендуется проведение рекультивационных работ (Зиннатшина, 2019; Рогозина, 2006; Van Hamme et al., 2003).

В России с 1993 г. выделяются пять уровней загрязнения земель нефтью и нефтепродуктами (г/кг): допустимый (ПДК не указывается); низкий (1,0-2,0), средний (2,0-3,0) и высокий ($>5,0$) («Порядок...», 1993; Зиннатшина, 2019).

Выбор приемлемого уровня зависит от вида нефтепродуктов, типа почв и природных зон. Поэтому в отдельных регионах страны вводится ориентировочно допустимая концентрация (ОДК), которая основана на фоновых значениях содержания углеводов в почве, а в других случаях ОДК устанавливается в зависимости от способности почв к самоочищению загрязненных почв в течение одного вегетационного сезона (Пиковский и др., 2003; Зиннатшина, 2019).

В РФ рекультивацию сельскохозяйственных земель предлагается начинать при уровне загрязнения углеводородами от 0,3 до 1,0 г/кг, а земель несельскохозяйственного назначения – от 1 до 5 г/кг (Рекультивация земель...). В нашей стране в соответствии с рекомендациями для различных природных зон в России были установлены следующие ОДК для нефти и нефтепродуктов в разных типах почв, в зависимости от их гранулометрического состава (легкие фракции / тяжелая фракция) (г/кг): мерзлотно-тундрово-таежные – 0,7 / 2,0; таежно-лесные – 2,0 / 4,0; лесостепные и степные – 4,0 / 8,0; полупустынные и пустынные – 2,0 / 8,0 (Другов, Родин, 2007).

Для территорий, где ведется нефтедобыча, институт Геоэкологии РАН определяет следующие безопасные предельные уровни загрязнения почв нефтепродуктами для трех основных районов (г/кг): мерзлотно-тундровые и таежные – $\leq 1,0$; таежно-лесные – $\leq 5,0$; лесостепные и степные – 1,0 (Рогозина, 2006). Для нефтедобывающих районов Сибири рекомендуется считать рекультивацию завершенной после достижения густого и устойчивого травостоя и следующих предельных концентраций остаточных нефтепродуктов в среднем по участку (г/кг): в минеральных и смешанных почвах - ≤ 15 ; в органогенных почвах - ≤ 80 (Середина и др., 2006; Зиннатшина, 2019).

Согласно Постановлению правительства ХМАО от 2004 (Постановление... 2004) в подзоне среднетаежных и северотаежных почв, предназначенных для лесохозяйственного использования, для органо-минеральных почв, в горизонтах А0, А1 нормативное значение составляет 15 г/кг, в горизонтах Ае, Vf, Vh, В, С – 3 г/кг.

С этими выводами согласуются предложения ряда авторов, указывающих на необходимость экосистемного подхода при оценке безопасного уровня остаточных количеств углеводов нефти в почве, когда учитываются не только количественные показатели загрязнения почв углеводородами, но и интегральные показатели их токсичности (Капелькина, 2014; Терехова, 2011). В соответствии с санитарными правилами (СП 2.1.7.1386-03) по определению класса опасности токсичных отходов

производства и потребления, при оценке эффективности рекультивации химически загрязненных почв наряду с требованием **снижения остаточных концентраций поллютантов в почве до уровней ПДК/ОДК**, необходимо учитывать ее **интегральную токсичность**, основанную на использовании двух стандартных методов: 1 - фитотестирования по длине корней и биомассе травянистых растений и 2 - биотестирования на гидробионтах: рачки *Daphnia magna* либо простейшие *Paramecium caudatum* (Терехова и др., 2016).

1.4 Методы восстановления земель после аварийных разливов нефти и нефтепродуктов

Разливы нефти и нефтепродуктов происходят в различных условиях. Важное значение имеет структура ландшафта на месте разлива, почвенно-климатические условия и свойства нефти.

Почвы обладают наличием систем защиты от загрязнений, т.е. **способностью к самоочищению**, т.е. способностью уменьшать концентрацию загрязняющего вещества в результате процессов миграции и биodeградации. В результате процессов самоочищения происходит разложение опасных загрязнений и их транспортировка за пределы ландшафта или перераспределении внутри него. Процесс самоочищения почвы обычно длительный и не всегда возможен. Он требует определенных температурных и физико-химических условий, поэтому, на нарушенных территориях необходимо производить рекультивацию, и возвращать почву и растительный покров к исходному состоянию.

Самоочищающая способность почв от углеводородных загрязнений зависит от многих факторов: почвенно-климатических условий окружающей среды, а также от состава и уровня нефтяных загрязнителей (Исмаилов, Гасимова, 2016). При сильном уровне загрязнения самоочищение почвы может длиться десятилетиями. Поэтому, в большинстве случаев высока вероятность процесса деградации почвы, а, следовательно, для ликвидации последствий загрязнения окружающей среды необходимо проводить мероприятия по восстановлению загрязненных почв, т.е. их **ремедиацию**, которая обеспечивает снижение концентрации токсичных веществ в почве до уровня предельно допустимой концентрации (ПДК) или ориентировочно допустимой концентрации (ОДК) поллютантов.

Существует также и другой термин для описания восстановления загрязненных земель, а именно **рекультивация земель**, под которым понимают комплекс инженерных и санитарно-гигиенических мероприятий, предусматривающих восстановление свойств почвы и ее плодородия в целях исключения физического и химического негативного воздействия на окружающую природную среду (Ганеев, Кулагин, 2009).

Сегодня вопрос очистки земель от нефти является крайне важным, поэтому компании заинтересованы в разработке экономически выгодных и эффективных способов очистки, к которым в первую очередь относятся методы ремедиации непосредственно на загрязненном участке - *in situ* (Руденко, 2012)

По механизмам действия методы очистки почв разделяются на небиологические, биологические и комбинированные.

1.4.1 Небиологические методы ремедиации

Небиологические методы подразделяют на физические и физико-химические.

Физические (механические) методы ремедиации состоят в механическом удалении загрязнений с поверхности почвы с помощью экскаваторов, бульдозеров, скрепер, фрезы и т.п. С помощью навесной фрезы срезается заданный по глубине слой загрязнённого грунта и укладывается в погрузчик. Извлеченная из массива загрязненная почва вывозится на специализированный полигон с целью хранения или утилизации под контролем сертифицированных организаций. Эти методы просты и наиболее универсальны, но, по сути, данный способ заключается в переносе наиболее загрязненного грунта (верхнего слоя почвы) с одного места на другое. Нередко, механический метод является предварительным этапом в цепи многоступенчатой схемы процесса комбинированной очистки почвы.

Физико-химические методы являются более энергозатратными, чем механические, однако они более эффективны. К ним относятся: 1) сбор разлившейся нефти и нефтепродуктов с помощью *вакуумных установок* с последующим сжиганием нефтесодержащих продуктов; 2) *промывка почвы* с использованием поверхностно-активных веществ – ПАВ; 3) *сорбционные методы*, основанные на использовании сорбентов.

Для очищения грунтов от нефти и нефтепродуктов также используется **сжигание** нефтяных загрязнений непосредственно на поверхности почвы. Этот метод можно использовать только в случае возникновения серьезной угрозы экосистемы при больших аварийных разливах нефтепродуктов (Vandura et al., 2017).

Одним из наиболее эффективных способов очистки почв считается *метод промывания их поверхностно-активными веществами (ПАВ)*. Этим способом можно удалить до 86% нефти и нефтепродуктов. Однако после его применения необходима дополнительная очистка почвы от поверхностно-активных веществ (Плотникова и др., 2017).

Часто для восстановления нефтезагрязненных и нарушенных земель используют **сорбционную очистку**. Сорбенты — это пористые твердые вещества с развитой удельной поверхностью, которые способны связывать на своей поверхности молекулы разных веществ из жидкой или газовой фазы. Сорбенты используются во многих случаях для ликвидации аварийных нефтеразливов на поверхности прибрежных зон, вод, асфальтированных дорог, и пр (Vandura et al., 2018). Эти методы считаются наиболее эффективными, экономичными, доступными, легкими и безопасными. В качестве сорбентов применяют в основном пористые материалы (золу, кокс, торф, силикагели,

алюмогели, активные глины, пенополимеры), а также различные отходы промышленности и сельского хозяйства (Германова и др., 2021). Сорбенты также широко используются для устройства водопроницаемых барьеров для предотвращения дальнейшего распространения опасных.

При выборе сорбента рекомендуется учитывать его сорбционную емкость, способность к иммобилизации нефти, в зависимости от объекта учитывают его плавучесть, эффективность, экономичность, доступность и биоразлагаемость, а также возможность повторного использования, невоспламеняемость и химическую устойчивость (Рóйка и др., 2015).

1.4.2 Биологические методы ремедиации

Биологические методы очистки основаны на способности биологических объектов снижать уровень загрязнения за счет поглощения и трансформации поллютантов.

1.4.2.1 Биоремедиация нефтезагрязненных почв и пути микробной деградации углеводов нефти

Наиболее часто используется метод микробной биоремедиации, основанный на способности микроорганизмов полностью разрушать поллютанты или превращать их в нетоксичные продукты (Михедова, Абашина, 2020; Колотова и др., 2021; Фасхутдинова и др., 2021; Созина, Данилов 2023).

Микробная деградация является одной из основных стратегий, используемых для биоремедиации органических соединений. Эффективность процесса биоремедиации зависит от потенциала микроорганизмов разлагать или трансформировать углеводороды нефти. Уникальность метода биоремедиации заключается в том, что с помощью этого метода аборигенные или инокулированные в виде биопрепаратов микроорганизмы способны разлагать многие загрязняющие вещества путем их утилизации в качестве ростового субстрата или снижать их концентрацию за счет частичной трансформации и превращения в нетоксичные продукты.

Технологии биоремедиации (*ex situ* либо *in situ*) основаны на конкретном процессе. Биоремедиация *in situ* — это удаление поллютантов или снижение их концентрации в естественной среде, а биоремедиация *ex situ* подразумевает извлечение загрязненного объекта и последующее его восстановление на специально оборудованных площадках или в крытых сооружениях.

Технологии биоремедиации подразделяются на **биостимуляцию**, основанную на изменении факторов окружающей среды для стимуляции активности автохтонных микроорганизмов с целью разложения или трансформации загрязняющих веществ, и

аугментацию, основанную на внесении извне выведенных в лабораторных условиях микроорганизмов-деструкторов с целью разложения или трансформации загрязняющих веществ.

Для стимуляции процесса микробной деградации углеводов необходимо создание оптимальных условий в почве для микроорганизмов-нефтедеструкторов, а именно: поддержание pH почвы, близкого к нейтральному, достаточную обеспеченность кислородом, оптимизацию гидротермических и водно-солевых условий, обеспеченность достаточным количеством макро- и микро-биофильных элементов. По разным оценкам, для успешной биодegradации углеводов нефти при проведении биоремедиации нефтезагрязненных почв наиболее оптимальным считается соотношение C:N:P:K = 100:1:1:1 или 50:1:1:1 (Riser-Roberts, 1998; Dados et al., 2015), иногда предлагается соотношение C:N:P = 100:1:0,1 (Silvana et al., 2014).

Аугментация, т. е. обогащение почвенной микрофлоры за счет внесения биопрепаратов на основе культур специфических микроорганизмов-деструкторов, применяется в том случае, когда аборигенная микрофлора малоактивна или вовсе отсутствует. Преимуществом аугментации является селективность микроорганизмов. Однако, как показывает практика, применение биопрепаратов не всегда имеет ощутимый эффект. Необходимо учитывать, что внесение микроорганизмов-деструкторов может нарушать естественные биоценозы, поскольку при этом происходит смена состава популяций ведущих сообществ микроорганизмов.

Биоремедиация является одним из лучших экологически безопасных способов удаления углеводов, обладающих рядом преимуществ по сравнению с другими методами (Mishra, Malik, 2014; Cerniglia, 1997; Wu et al., 2017). Данный метод преобразует углеводороды в менее токсичные соединения в результате метаболических и ферментативных реакций (Cerniglia, 1997). Однако, применение биоремедиации в условиях *in situ* обычно рекомендуется только для почв с исходным содержанием углеводов не более 5%.

Микроорганизмы обладают способностью в процессе своей жизнедеятельности претрансформировать молекулы нефтяных углеводов в более простые и не токсичные соединения, которые затем участвуют в природных биохимических процессах. Способностью к **биодegradации** обладают все нефтяные углеводороды (Зиннатшина, 2019). Микробиологическое превращение углеводов в почве в основном протекает по пути окислительной трансформации. Скорость биотрансформации углеводов зависит от температуры, кислотности среды, окислительно-восстановительных условий, также от физиологических особенностей микроорганизмов-деструкторов (Тимергазина, 2012).

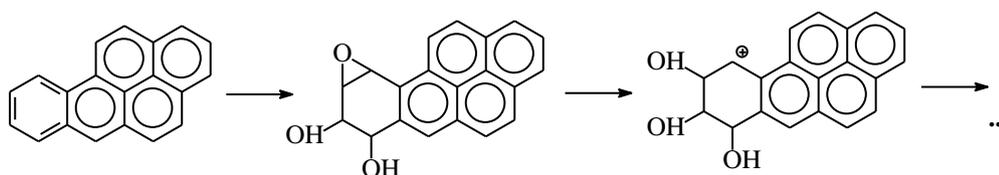
По скорости биodeградации нефтяные углеводороды располагаются в следующем порядке: н-алканы > изо-алканы > моноарены > циклические алканы > полициклические ароматические углеводороды. Смолы и асфальтены являются более стойкими соединениями нефтяных углеводородов (Pizarro-Tobías и др., 2015). Различные аэробные и анаэробные микроорганизмы обладают способностью использовать алканы в качестве единственного источника углерода и энергии (Зиннатшина, 2019). В почве чаще всего происходит биodeградация углеводородов под действием аэробных углеводород-окисляющих бактерий, но возможна также биodeградация углеводородов под действием микромицетов и актиномицетов. При использовании углеводородов в качестве источника углерода микроорганизмами-нефтедеструкторами в окружающей среде протекает через накопление различных промежуточных продуктов окисления УВН (Зиннатшина, 2019).

Пути микробной трансформации углеводородов подробно описаны в диссертации Зиннатшиной Л.В. (2019). Из-за гидрофобного характера молекул процессы их окисления осуществляются под действием оксигеназ (Зиннатшина, 2019). В зависимости от состава углеводородов в их разложении участвуют разнообразные ферментные системы. В деградации алканов с короткой цепью (C₂–C₄) участвует монооксигеназа метана (Wang, Zhao, 2013). Деградация средних н-алканов (C₅–C₁₇) осуществляется с помощью цитохрома P450 и монооксигеназ (Pizarro-Tobías и др., 2015). Деградация длинноцепочечных н-алканов (>C₁₈) обычно происходит под действием различных алкановых гидроксилаз (Гао, 2013).

Многочисленные исследования показали, что микроорганизмы могут разлагать целый ряд ПАУ. Метаболизм ПАУ в значительной степени определяется генетическими аспектами. Для большинства низкомолекулярных ПАУ хорошо документированы как аэробные, так и анаэробные пути. Аэробная деградация ПАУ начинается с присоединения молекулы кислорода между двумя атомами углерода бензольного кольца под действия фермента диоксигеназы. В результате образуется цис-дигидродиол. На следующем этапе под действием фермента дегидрогеназы происходит образование дигидроксилированного промежуточного продукта. Далее в результате реакции разрушения кольца образуются промежуточные продукты в виде трикарбоновой кислоты (Chauhan et al., 2000). Акцепторами электронов в отсутствие молекулярного кислорода могут служить нитратные, железистые и сульфатные ионы. Среди ПАУ-разлагающих микроорганизмов наиболее широкую известность получили: *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas cepacia*, *Alcaligenes denitrificans*, *Mycobacterium sp.*, *Aeromonas sp.*, *Alcaligenes faecalis*,

Bacillus cereus, *Vibrio sp.*, *Cyclotrophicus sp.*, *Stenotrophomonas maltophilia* (Михедова, Абашина, 2020).

Однако следует учитывать, что в ходе микробной трансформации Бенз(а)пирента могут образовываться промежуточные соединения, обладающие канцерогенными свойствами. На следующей схеме показан путь микробной деградации бенз(а)пирена с образованием тригидрокси-производного бенз(а)пирена:



В таком виде благодаря наличию в молекуле гидрофобной и гидрофильной частей молекула это соединение приобретает свойства поверхностно-активных веществ и легко проникает через клеточные мембраны. Это приводит к нарушению синтеза белка в клетке, проявляя канцерогенные свойства. Таким образом, опасность представляет не сам бенз(а)пирен, а продукты его биологического окисления (Зиннатшина, 2019).

1.4.2.2. Фиторемедиация нефтезагрязненных почв

Наряду с микроорганизмами растения также могут поглощать и трансформировать углеводороды нефти. Растения могут накапливать токсиканты в своих тканях и тем самым очищать почву. На этом основан метод **фитостабилизации**. Однако более перспективным и экономически выгодным приемом улучшения качества загрязненных почв является метод **ризоремедиации**, который основан на выращивании на загрязненных почвах растений, в корневой системе которых присутствуют микроорганизмы, трансформирующие загрязняющие вещества (Евдокимова, 2010).

Для фиторемедиации нефтезагрязненных почв рекомендованы устойчивые к ним растения, обладающие развитой корневой системой и значительной фитомассой. Эти растения должны обладать длительным периодом жизни, способностью расти на низкоплодородных почвах, что особенно важно для северных регионов. Они должны выделять в почву большое количество корневых экссудатов (аминокислоты, простые сахара, полисахариды, флавоноиды и др.), стимулирующих развитие ризосферной микробиоты, и синтезировать экзоферменты, трансформирующие загрязняющие вещества в менее токсичные соединения (Евдокимова и др., 2010, Антонинова и др., 2020). Известен ряд растений с повышенной устойчивостью к углеводородам нефти: двукосточник тростниковидный (*Phalaroides arundinacea*), овсяница луговая (*Festuca pratensis*),

timoфеевка луговая (*Phleum pratense*), волоснец песчаный (*Leymus arenarius*) (Евдокимова, 2010; Капелькина, 2014).

1.5 Сорбционная биоремедиация нефтезагрязненных почв

В каждом из описанных выше методов есть свои плюсы и минусы. С целью минимизации недостатков появилась тенденция, которая продолжает активно развиваться и по сей день - комбинирование различных методов очистки. Широкое применение получило сочетание биологического и физико-химического методов, а именно, сорбционная биоремедиация.

В работах Г. К. Васильевой с соавторами (Васильева и др., 1994; 2012; 2013; Vasilyeva et al., 2020; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022) было показано, что внесение сорбентов может существенно ускорить процесс биоремедиации сильно загрязнённых почв за счёт снижения их токсичности и оптимизации условий жизнедеятельности микроорганизмов-деструкторов. Метод основан на использовании природных сорбентов и агроприемов, что создает оптимальные условия для развития и жизнедеятельности аборигенных и/или специально инокулируемых микроорганизмов-деструкторов и растений-фиторемедиаторов.

1.5.1 Характеристики природных сорбентов, используемых для ликвидации последствий нефтеразливов

Сорбенты, используемые для ликвидации последствий нефтеразливов, можно разделить на четыре основные группы в зависимости от источника происхождения: минеральные, природные органические, углеродистые и синтетические (синтетические полимеры) (Bandura, 2018). В недавних обзорах сравниваются различные органические, неорганические и синтетические нефтяные сорбенты, используемые для сбора нефти и жидких нефтепродуктов при нефтеразливах как на суше (Skirdin, Kazmina, 2022), так и на водных поверхностях (Hoang et al., 2021). Также были указаны наиболее эффективные бренды.

1.5.1.1 Минеральные сорбенты

Минеральные сорбенты представляют собой большую группу минералов природного или синтетического происхождения. Большинство минеральных сорбентов представляют собой сырье природного происхождения, которое используется в порошкообразном или гранулированном виде с размером частиц от нескольких нм до нескольких см (<3 см). Они, как правило (Bandura, 2018), негорючи и химически устойчивы. Показано, что их сорбционная емкость по отношению к нефтяным производным колеблется в пределах 0,2–0,5 г/г (Tic, 2015; Bandura et al., 2017; Месяц и др., 2009).

Алюмосиликаты. Среди природных минералов важное место занимают алюмосиликаты – это широко распространенная группа природных и синтетических силикатов, комплексные анионы которых содержатся кремний и алюминий (например, $(\text{AlSiO}_4)^-$, $(\text{AlSi}_4\text{O}_{10})^-$, $(\text{Al}_2\text{Si}_3\text{O}_{10})^{2-}$), а в качестве катионов выступают Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , реже Ba^{2+} и Li^+ . К алюмосиликатам относятся глинистые минералы, слюды и полевые шпаты.

Глинистые минералы охватывают несколько групп гидрофильных алюминиевых филлосиликатов. Глинистые минералы образуются в отложениях и почвах, а также в результате диагенезиса и гидротермального изменения горных пород. Их кристаллическая структура состоит из кремнекислородных тетраэдров $(\text{SiO}_4)^4-$, соединенных в трех углах общими анионами кислорода (Bandura, 2018), которые образует так называемый тетраэдрический лист (Bandura et al., 2017). В качестве катионов выступают двухвалентные или трехвалентные катионы металлов: Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} и Ca^{2+} (Carmody et al., 2007; Joshiba et al., 2021). В структуре глинистых минералов межслойное пространство занимают гидратированные катионы. Наиболее распространенными представителями различных структур глинистых минералов являются ***каолинит***, ***монтмориллонит*** и ***сепиолит*** (Bandura, 2018).

Глинистые минералы характеризуются высокой сорбционной способностью, набухаемостью, способностью к ионному обмену, что объясняется наличием поверхностных OH- групп и слабыми электростатическими взаимодействиями между слоями/листами и обмениваемыми катионами (Bandura, 2018).

Из **гидрослюд** наиболее известен ***вермикулит*** — минерал, имеющий слоистую структуру. Продукт вторичного изменения (гидролиза и последующего выветривания) темных слюд биотита и флогопита (Писарчук, 2014). Он представляет собой крупные пластинчатые кристаллы золотисто-жёлтого или бурого цвета. Химический состав отвечает приблизительной формуле $(\text{Mg}^{2+}, \text{Fe}^{2+}, \text{Fe}^{3+})_3 (\text{Al}, \text{Si})_4 \text{O}_{10} \cdot (\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Однако вермикулит редко отвечает общей формуле и обычно содержит примеси (Писарчук, 2014).

Структура вермикулита имеет как первичную, так и вторичную пористость. Первичная пористость обусловлена кристаллическим строением минералов, а вторичные поры образованы зазорами между контактирующими частицами. При адсорбции полярных веществ решетка первичных пор расширяется, и в межпакетное пространство внедряется один или несколько слоев сорбата (патент RU 2458958; Мурзина, Успабаева 2012; Желтобрюхов и др. 2013).

В обычном состоянии вермикулит насыщен водой. Термическая обработка минерала при 100–400°C приводит к вспучиванию, что увеличивает его объем в 15–20 раз. При этом

получается *вспученный вермикулит* (Материалы ОВОС..., 2018). В процессе вспучивания вермикулита вода, кристаллизованная между чешуйками слюды, испаряется, что приводит к образованию макро- и микропор в частице вермикулита и увеличению удельной поверхности примерно в 5 раз. Сам по себе вспученный вермикулит гидрофилен. Поэтому для сбора нефтепродуктов используют химически модифицированный вермикулит (Баюрова, 2014). Вспученный вермикулит применяют для очистки от нефти почв, водной поверхности и донных отложений водоемов, а также промышленных и бытовых сточных вод. Вспученный вермикулит используется также в качестве носителя для нефтеокисляющей микрофлоры, что позволяет использовать его повторно после регенерации (Вермикулит в экологии..., Бахирева и др., 2009).

Цеолиты представляют собой гидроалюмосиликаты щелочных и щелочноземельных металлов. Основными элементами кристаллического каркаса цеолитов являются тетраэдры $(\text{SiO}_4)^{4-}$ и $(\text{AlO}_4)^{3-}$, соединенные атомами кислорода. Эти тетраэдры образуют трехмерную кристаллическую решетку со свободными каналами диаметром 0,3–3 нм, каждый вид цеолита имеет поры одинакового диаметра, вследствие чего сорбент проявляет селективный характер, что позволяет отнести данную группу к классу “молекулярных сит”. В зависимости от вида цеолита сорбент проявляет различные селективные свойства.

Кремнеземы включают горные породы (кремнистые земли, диатомовые земли, диатомиты) и перлит. Из них наиболее часто используются диатомиты.

Диатомит (син. инфузорная земля, кизельгур) — это мелкозернистая рыхлая горная осадочная кремниевая порода биогенного происхождения. Диатомит состоит в основном (на 75–90%) из окиси кремния, преимущественно аморфной $(\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O})$. Кроме того, в его состав входят окислы алюминия (3–10%), Fe III (2–5%), Ca (0,5–0,9%), Mg (0,6–1,7%) и некоторые другие элементы в следовых количествах.

Диатомит распространен во многих регионах мира. Это белые или желтоватые рыхлые породы, состоящие из мельчайших слабосцементированных кремнистых скорлупок - диатомей. Макроскопически они похожи на мел, от которого отличается отсутствием реакции вскипания с HCl и повышенной гидрофильностью. Диатомиты - лёгкие (средняя плотность 400 – 950 кг/м³), не тонущие в воде высокопористые породы с регулярной структурой (Селезнев, 2020). Они имеют уникальные физические характеристики, такие как высокая проницаемость (0,1–10 mD) и порозность (25–65% и выше – до 90%), малый размер частиц, низкую плотность (0,25–0,55 г/см³) и теплопроводность, высокую площадь удельной поверхности (10–60 м²/г), средний радиус пор 15–50 нм (Селезнев, 2020). Исследованный в работе (Aivalioti et al., 2010) диатомит, например, имеет специфическую

площадь поверхности 38,4 м²/г, общий объём пор 0,05 см³/г, которые состоят на 92% из мезопор (2–50 нм), и на 8% из микропор (<2 нм).

Такие свойства поверхности диатомита, как гидрофобность, растворимость, заряд, кислотность, ёмкость ионного обмена и сорбционная ёмкость, сильно зависят от присутствия воды, которая частично структурно связана кристаллами диатомита, образуя на его поверхности активные гидроксильные группы, которые могут подвергаться протонированию и депротонированию в зависимости от pH среды (Xu et al., 2019).

1.5.1.2 Органические сорбенты

Наиболее широко используемым сорбентом органического происхождения является торф. **Торф** – это продукт неполного разложения растений под действием биохимических процессов в условиях повышенной влажности и недостатка кислорода (Зиннатшина, 2019). В зависимости от ботанического состава и климатических условий образуются разные виды торфа, отличающиеся по структуре, пористости, влагоемкости, прочности, способности к фильтрации (Зиннатшина, 2019). В зависимости от условий образуются верховые или низинные типы торфа (Амосова, Горяйнов 2021; Антонинова и др., 2020; Адельфинская, Мязин 2020).

Верховой торф содержит не более 10% растительности эвтрофного типа. Он образуется в условиях бедного минерального питания с общей минерализацией вод 20–30 мг/л (атмосферная вода) или 40–60 мг/л (поверхностные воды). Он отличается малой зольностью, небольшой плотностью, высокой пористостью и низким pH – от 2,8 до 4,2 (Зиннатшина, 2019). В растениеводстве чаще всего используют *нейтрализованный верховой торф* с pH около 6,0.

Низинный торф образуется на пойменных и пойменно-притеррасных территориях. Степень разложения растительных остатков в низинном торфе слабая – от 10 до 60%. Характеризуется слабокислым или нейтральным pH – от 5,5 до 7,0. Низинный торф по сравнению с верховым содержит больше биофильных элементов (Ca и N), а также микроэлементов: Cu, Mo, Co, Mn и др. (Зиннатшина, 2019).

Добавки торфа в почву способны улучшать ее структуру и водно-воздушный баланс. В состав торфа входят гуминовые кислоты, целлюлоза, лигнин. Чаще всего торф используют в качестве источника энергии, во вторую очередь – для нужд сельского хозяйства и садоводства, а также для рекультивации нарушенных и загрязненных земель (Зиннатшина, 2019; Дмитриева и др., 2022).

Из природных органических сорбентов наиболее эффективными являются сорбенты, подвергнутые специальной обработке (например, термической), которые обладают

высокой сорбционной способностью по отношению к нефти: от 0,7 до 4,0 г/г; а иногда и намного выше (Adebajo et al., 2003; Tic, 2015). К ним относится *торфяной сорбент*, который представляет собой модифицированный активированный торфяной продукт с влажностью около 10%. Он считается ведущим в мире нефтепоглощающим продуктом, предназначенным для сдерживания нефтяных разливов и дальнейшей очистки почвогрунтов.

Торфяной (сфагновый) мох выступает в качестве одного из перспективных сырьевых материалов для разработки недорогого и экологически чистого природного сорбента, не требующего регенерации. Он рассматривается как гиперсорбент для ликвидации нефтеразливов. Однако, из-за повышенной способности впитывать воду его использование для поглощения можно повысить за счет разрушения гидрофильных групп на его поверхности путем температурной обработки или методами химической модификации. Нефтесорбционная способность карбонизованного и ацетилованного продуктов равна, соответственно, 14,2–15,7 и 7,6–8 г/г, что существенно выше по сравнению с исходным торфяным мхом – 5,8 г/г.

Существуют несколько коммерческих сорбентов, относящихся к группе активированных торфов (Enviropeat, Spill-Sorb, Peat Sorb, Sphag Sorb и др.), которые получены путем активации чистого и высококачественного сфагнового мха. Одним из таких продуктов является продукт активирования сфагнового мха – **Спилсорб** (Spill-sorb). Это полностью натуральный, 100% органический, проверенный в полевых условиях промышленный сорбент, эффективный, нетоксичный и биоразлагаемый (Mambwe et al., 2021).

1.5.1.3 Углеродистые сорбенты

К углеродистым сорбентам относятся активированный уголь и биочар (биоуголь). **Активированный уголь** (АУ) – высокопористый материал, получаемый путем пиролиза различных углеродистых материалов (древесина, угли, косточки и шелуха продуктов сельского хозяйства, лигнин и др.) при ограниченном доступе воздуха с последующей активацией полученных материалов с помощью окислителей (перегретый пар, кислоты) для удаления аморфного углерода и увеличения объема микропор (Мухин и др., 2000, Перистый и др., 2009).

Основой активированных углей является углерод (до 96%), они принадлежат к группе графитовых тел и представляют разновидность микрокристаллического углерода. Графитовые кристаллиты АУ состоят из трех-четырех параллельных углеродных слоев,

находящихся друг от друга на расстоянии $0,34 \square 0,36$ нм, образованных несколькими шестичленными кольцами (рис. 5).

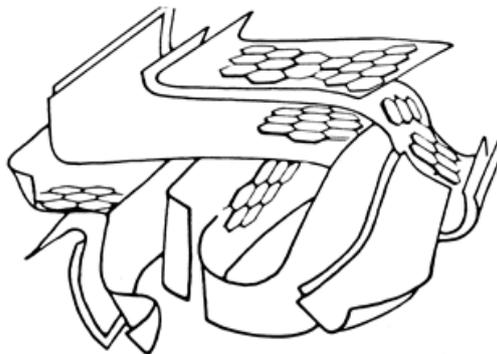


Рис. 5 Схематическое изображение микрокристаллической структуры активированного угля (Кинле, Бадер, 1984).

Кроме графитоподобных кристаллитов в АУ присутствует аморфный углерод (30–60%), а также имеются гетероатомы (O, S, металлы и др.) – до 10%. Благодаря развитой специфической поверхности (до 500–2000 м²/г) и микропористой структуре (средний диаметр пор 1–2 нм, минимальный – 0,35 нм), АУ обладает высокой поглотительной способностью по отношению ко многим органическим и неорганическим веществам (Доусон, Мерсер, 1996; Мухин и др., 2000).

Активированный уголь имеет широкий спектр применения, в частности его можно использовать как поглотитель нефти и нефтепродуктов. Существуют два основных аспекта применения активированного угля и других сорбентов для рекультивации загрязненных почв: 1) – уменьшение биодоступности высокотоксичных химикатов в почвах и 2) – создание оптимальных условий для ускоренной биоремедиации почв. В первом случае АУ используют преимущественно для детоксикации остатков гербицидов в сельхозугодьях, а во втором - для биоремедиации сильнозагрязненных почв. В последнем случае обычно используется гранулированный активированный уголь (Айад и др., 2016)

1.5.2 Механизмы сорбции

Сорбция молекул на поверхности сорбентов происходит за счет следующих механизмов: адсорбция, абсорбция, ионного обмена и комплексообразования (Зиннатшина, 2019).

Адсорбция молекул углеводородов и их продуктов трансформации происходит в результате оседания его молекул на поверхности сорбента на границе раздела двух сред: газообразной или жидкой и твердой. Повышенная способность сорбентов объясняется наличием высокой удельной площади поверхности за счёт их пористой структуры. Поры

представляют собой систему каналов различного диаметра. Площадь поверхности сорбентов в основном складывается из площади мезо- и микропор, а макропоры выполняют функцию проводящих каналов (Мухин и др., 2000).

Взаимодействие нефтяных загрязнителей с поверхностью сорбентов происходит в основном за счет физических и/или химических сил. **Физическая сорбция** процесс обратимый, при котором происходит взаимодействие посредством Ван-дер-ваальсовых сил. **Хемосорбция** осуществляется за счет образования ковалентных связей между молекулами сорбата и поверхностью сорбента или в результате **электростатического взаимодействия между заряженными молекулами сорбата и противоположно заряженными ионами на поверхности сорбента.**

1.5.3 Использование сорбентов в ходе биоремедиации нефтезагрязненных почв

В первые годы изучения возможности использования сорбентов для повышения выживаемости микроорганизмов-деструкторов, инокулируемых в виде биопрепаратов, основные усилия были направлены на разработку препаратов с сорбентами в качестве носителей для микроорганизмов-нефтедеструкторов (Зиннатшина, 2019). Предполагалось, что механизм положительного действия сорбентов основан на более высокой выживаемости иммобилизованных микроорганизмов в токсичных средах по сравнению со свободными клетками (Зиннатшина, 2019; Tessmer et al., 1997; Carvalho et al., 2001; Lui et al., 2015; Chen et al., 2017; Johnson et al., 2016). Известны препараты на основе бактериальных и грибных штаммов или смешанных культур, иммобилизованных на торфе, шелухе подсолнечника, ГАУ, биочаре, цеолите, вермикулите, диатомите, модифицированных глинистых минералах, как индивидуально, так и в комбинации с другими добавками (Кузнецов и др., 2010; Башкин и др., 2021; Su Dan et al., 2006; Adeyemo, 2019; Liang et al., 2009; Silvana et al., 2014; Cubitto, Gentili, 2015; Muangchinda et al., 2018; Zhang et al., 2009; Chu et al., 2010; Hu et al., 2011; Wang et al., 2012; Tao et al., 2018). При внесении таких препаратов быстрее разлагались не только алканы, но и ароматическая фракция углеводородов, включая ПАУ (Зиннатшина, 2019; Liu et al., 2015; Kong et al., 2018; Straube et al., 1999; Su Dan et al., 2006).

Однако в работах Г.К. Васильевой еще в 1994 г. было показано, что отдельное внесение сорбентов и биопрепаратов на основе микроорганизмов-деструкторов не менее эффективно, чем внесение иммобилизованных микроорганизмов. На первом этапе этот метод был разработан для сорбционной биоремедиации гербицида пропанида и его метаболита 3,4-дихлоранилина (Васильева и др., 1994), а затем и для других поллютантов: 2,4,6-тринитротолуола и полихлорированных бифенилов (Vasilyeva et al., 2006; 2009; 2010).

Эти исследования привели к разработке метода сорбционной биоремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, основанного на использовании гранулированного активированного угля (Васильева и др., 2013; Semenyuk et al., 2014; Vasilyeva et al., 2020). Было доказано на примере 3-х типов почв Центральной полосы РФ (чернозем обыкновенный, серая лесная и аллювиально-луговая), загрязненных нефтью в дозе около 5% (Васильева и др., 2016), что наилучшим сорбентом для их сорбционной биоремедиации является смешанный сорбент АУД на основе гранулированного активированного угля и диатомита в соотношении 1:4 (Кондрашина и др., 2018). Затем в эксперименте с серой лесной почвой, загрязненной сырой нефтью в концентрации от 5 до 15%, было показано, что внесение АУД в дозах, соответствующих примерно соотношению сорбента к суммарной концентрации УВН 1:1, значительно ускоряло разложение углеводородов нефти по сравнению с внесением одного биопрепарата. При этом разложение углеводородов в почвах с добавками АУД сопровождалось значительно более высоким (в 2-3 раза) повышением численности микроорганизмов-деструкторов по сравнению с контролем без сорбентов. При этом основное фитотоксическое действие оказывали промежуточные продукты окисления углеводородов. Накопление таких водорастворимых и высокотоксичных метаболитов углеводородов в почве было продемонстрировано в экспериментах по микробной деградации дизельного топлива в почве (Mao et al., 2009; Watson et al., 2002). Высокие концентрации токсичных и подвижных продуктов окисления были обнаружены в почвах, загрязненных различными полициклическими углеводородами (Boll et al., 2015). В других работах также было продемонстрировано положительное влияние ГАУ и в меньшей степени диатомита, внесенных совместно с биопрепаратом, на скорость биodeградации нефти в почве Кувейта (Cho et al., 1997). Crooks and Prentice (2017) предположили, что положительное действие диатомита может быть связано с повышением устойчивости растений в присутствии моно- и поликремниевых кислот, выделяющихся в почвах с добавками диатомита.

Особенно важно то, что в присутствии АУД наблюдалось резкое снижение миграции этих водорастворимых токсичных метаболитов по почвенному профилю, особенно в сильно загрязненных почвах (15% нефти), что снижает вероятность загрязнения грунтовых вод в процессе очистки почв в условиях *in situ* (Васильева и др., 2013; Яценко и др., 2014; Барахов, 2021; Vasilyeva et al., 2020). Положительное влияние ГАУ на скорость биоремедиации почв Мурманской области, исторически загрязненных нефтепродуктами, было продемонстрировано также в работе (Мязин и др., 2020; Мансурова, 2022).

На следующем этапе было показано положительное действие других натуральных сорбентов (минеральных, органических и углеродистых) на скорость биоремедиации серой

лесной почвы, умеренно загрязненной нефтью (до 5%). Показано, что внесенные в загрязненную почву сорбенты снижают токсичность почв за счет обратимой сорбции поллютантов. Кроме того, в присутствии большинства изученных сорбентов повышается **влагоемкость, пористость и гидрофильность** почв (Зиннатшина и др., 2018; Михедова и др., 2022; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022).

Из **углеродистых сорбентов** в последние годы все большее внимание уделяется использованию биочаров в качестве недорогих адсорбирующих материалов, полученных в результате пиролиза отходов растительной биомассы. Так как сырье, используемое для производства биочара, является отходом, его утилизация является повторным использованием, что соответствует современному подходу к управлению ресурсами и циркулярной экономике, тем самым обеспечивая большую экономию материальных и энергетических затрат. Следовательно, преобразование исходного сырья в биочар в качестве сорбента для очистки почвы, является «беспроблемным» решением как для улучшения управления отходами, так и для защиты окружающей среды. Внесение БЧ и микробного консорциума, совместно с компостом с последующей доочисткой путем фиторемедиации обеспечило ускоренную очистку нефтезагрязненной почвы (Fida et al., 2018). Внесение биочара в комбинации с грибной микоризой (Abbaspour et al., 2020; Aziz et al., 2020) или с биопрепаратами на основе нефтеструктуров (Ali et al., 2021) повысило эффективность удаления УВН из нефтезагрязненной почвы. Внесение БЧ вместе с грибной биомассой или органическими материалами (солома) ускоряло разложение не только алканов и циклоалканов, но и наиболее устойчивой фракции нефти – ПАУ. При этом, ускоренное разложение углеводородов происходит также и за счет повышения содержания растворимого ОБ в почве, что способствует увеличению численности нефтеструктуров и повышает микробную доступность УВН (Bao et al., 2020).

Востребованность натуральных **органических сорбентов** связана с рядом преимуществ. Помимо обогащения почвы биофильными элементами, органические сорбенты также служат отличными разрыхлителями, что способствует процессу аэрации, а это ускоряет разложение ксенобиотиков. К ним относятся торф, опилки, щепа, перегной, навоз, компост, солома и другие растительные остатки. Положительная роль внесения органических материалов продемонстрирована в работах (Myazin et al., 2021; Anyika et al., 2013; Agamuthu, Dadrasnia, 2013; Nunes et al., 2020; Onwosi et al., 2019; 2020; Tarabukin, 2020; Укрaka et al., 2021).

Минеральные сорбенты используются как для иммобилизации загрязнителей, так и в качестве разрыхляющего компонента. Для удаления нефтяных загрязнений предпочтительнее использование минеральных сорбентов с высоким содержанием

мезопор. Механизм заключается в капиллярном заполнении пор сорбента. Примером таких минеральных сорбентов могут быть вермикулит, цеолит и коммерческий препарат “Bioter” на основе алюмосиликатов и диатомита (Silvana et al., 2014; Зиннатшина, 2019).

Таким образом, в некоторых публикациях показано положительное влияние углеродистых (ГАУ и биочара) или минеральных (“Bioter”) сорбентов при совместном внесении с биопрепаратом на основе штаммов-нефтедеструкторов за счет снижения токсичности почв и повышения численности специфических микроорганизмов (Silvana et al., 2014; Fida et al., 2018; Зиннатшина, 2019; Abbaspour et al., 2020; Ali et al., 2021; Vasilyeva et al., 2020; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022). Однако, в целом ряде недавних публикаций внесение различных сорбентов (ГАУ, биочар, торф, древесные опилки и щепы, различные растительные отходы и отходы овечьей шерсти, а также цеолит и вермикулит) ускоряло микробную деградацию углеводородов нефти за счет повышения активности аборигенных микроорганизмов-деструкторов (Зиннатшина, 2019; Булуктаев, 2022; Agamuthu, Dadrasnia, 2013; Qin et al., 2013; Alvim, Pontes, 2018; Abbaspour et al., 2020; Onwosi et al., 2017; Zavgorodnyaya et al., 2017; Ali et al., 2020; Aziz et al., 2020; Bao et al., 2020; Myazin et al., 2020, Nunes et al., 2020; Dike et al., 2021; Sayed et al., 2021; Minnikova et al., 2022).

1.6 Выводы на основании литературного обзора

По данным статистики наибольшее количество жидких углеводородов добывается в Западной Сибири. В том числе на территории ХМАО добывается более 40% российской нефти, а территория ЯНАО – является главным газовым центром России. При разработке, добыче и транспортировке происходит значительное количество аварийных инцидентов, которые оказывают губительное воздействие на окружающую среду. Страдает чувствительная северная флора и фауна, почвенный покров покрывается гидрофобной нефтяной пленкой, нефть попадает в водные объекты, тем самым заражая их. Наибольшее количество аварийных происшествий происходит на трубопроводном транспорте, так как он является наиболее удобным и бюджетным способом транспортировки нефти, газа и газового конденсата. Ежегодно, помимо мелкомасштабных инцидентов происходят значительные аварии, которые приносят как трудно поправимые экологические последствия, так и большие финансовые штрафы.

В России существует серьезная проблема, связанная с необходимостью восстановления нарушенных земель, загрязнённых нефтью и нефтепродуктами, а также прочими ксенобиотиками. Особенно остро эта проблема стоит в нефтедобывающих районах ХМАО и в несколько меньшей степени ЯНАО. Для решения данной задачи необходимо проведение рекультивационных работ, направленных на восстановление загрязненных участков и приведение их к исходному состоянию. Если не проводить рекультивацию почв,

могут произойти серьезные экологические изменения и в последствии привести к необратимым экосистемным последствиям.

Для восстановления нарушенных территорий разработано множество методов очистки. Их можно разделить на 3 группы: биологические (биостимуляция, биоаугментация, биоремедиация), небиологические (механические и физико-химические) и комбинирование вышеперечисленных методов. Все методы имеют свои преимущества и недостатки.

Наиболее распространенным является метод биоремедиации. Он заключается в создании оптимальных условий для активации аборигенных или инокулированных в виде биопрепаратов микроорганизмов-нефтедеструкторов путем оптимизации аэрогидротермических условий, уровня кислотности близкого к нейтральному, оптимального солевого и питательного режимов. Обычно для создания оптимального соотношения углерода и биофильных элементов в соотношении C:N:P:K=50÷100:1:1:1 вносят необходимое количество комплексных минеральных удобрений, а также известь для предотвращения избыточного подкисления почвы. Однако при повышенных уровнях загрязнения нефтью почвенная биота и растения ингибируются или погибают из-за повреждения клеточной стенки и/или накопления токсичных и подвижных продуктов окисления углеводов. Поэтому применение метода биоремедиации рекомендуется только для почв с уровнем загрязнения углеводов менее 5%.

Для целей ремедиации сильнозагрязненных почв было предложено использование метода сорбционной биоремедиации, основанного на дополнительном внесении натуральных сорбентов с целью снижения токсичности почв и улучшения их водно-физических свойств. В настоящее время этот метод разработан для почв центрального региона России. Однако наиболее острые экологические проблемы существуют в местах добычи, транспортировки и переработки нефти, основная часть которых находится в Западной Сибири. В этом регионе на значительных территориях имеются минеральные почвы, отличающиеся легким гранулометрическим составом и низкой буферностью. Поэтому вопрос разработки эффективного метода сорбционной биоремедиации для ликвидации последствий аварийных разливов в этом регионе является весьма актуальным.

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объекты

2.1.1 Характеристика почв

Эксперименты проводили на образцах трех типов песчаных минеральных почв, отобранных из верхнего минерального слоя на фоновых территориях вблизи нефтяных или нефтегазовых месторождений Западной Сибири.



Рис. 6 Авторское фото ландшафта точки отбора пробы почвы, ЯНАО, 2019 г.

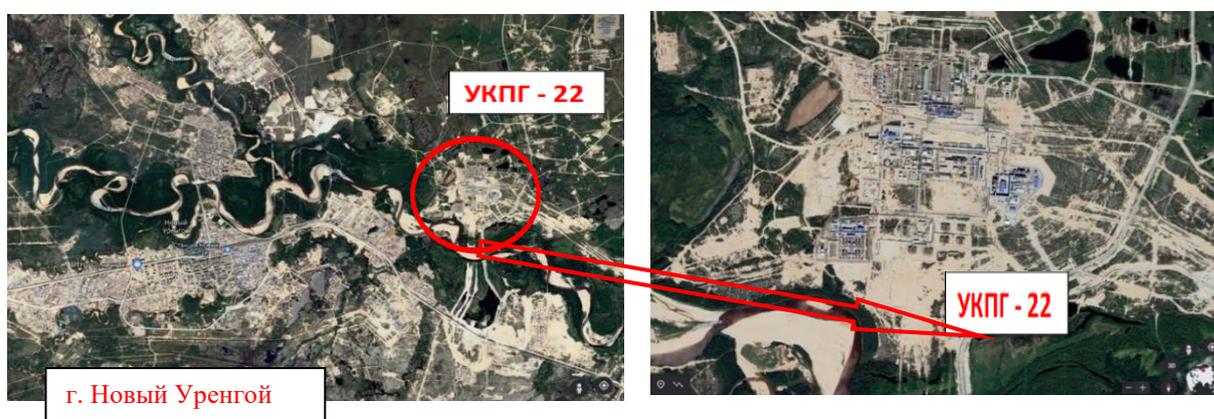


Рис. 7 Карта-схема спутниковой съемки Google Earth территории УКПГ-22 вблизи г. Новый Уренгой и место отбора образца подзола иллювиально-железистого для проведения эксперимента.

Вегетационный эксперимент №1 проводили на образце *глеево-подзолистой почвы*, отобранной на фоновой территории близ Уренгойского нефтегазоконденсатного месторождения (УНГКМ), в 7 км от г. Новый Уренгой, ЯНАО. Ландшафт точки отбора пробы представлен на рис. 6, а на рис. 7 показана карта-схема спутниковой съемки Google Earth территории УКПГ-22 вблизи г. Новый Уренгой и место отбора образца почвы. Образец почвы весом 30 кг был отобран из поверхностного слоя (0–20 см) после удаления

лесной подстилки. Почву доставили в г. Пущино (ИФХиБП РАН), где ее просеивали сначала через сетку с размером ячеек 1 см, а затем через сито 3 мм (Зиннатшина, 2019).

Для второго этапа исследований использовалась почва **подзол иллювиально-железистый** (АоА1-А2-Vf-Cf). Образец почвы, весом 300 кг отбирали из верхнего минерального 20-см-го слоя на фоновой территории вблизи Самотлорского месторождения, ХМАО. На рис. 8 показана фотография ландшафта и места отбора образца почвы. Почву просеивали через сетку 0,5 см и отделяли лесную подстилку.

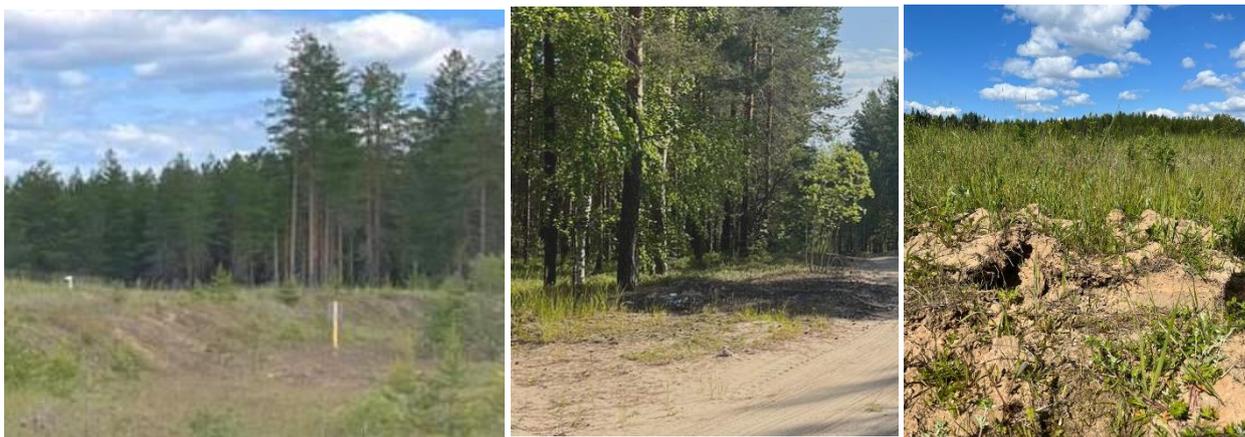


Рис. 8 Место отбора образца почвы подзола иллювиально-железистого вблизи г. Нижневартовск. (автор Михедова Е.).

Апробацию разработанного метода проводили в полевых условиях на **литострате песчаном**, отобранном на территории линейной производственно-диспетчерской станции (ЛПДС) компании «Транснефть» вблизи г. Сургут. На рис. 9 показано место отбора образца литострата песчаного.



Рис. 9 Авторское фото места отбора образца литострата песчаного.

В Таблице 1 приводятся агрохимические характеристики и гранулометрический состав почвенных образцов, используемых в экспериментах. Все почвы супесчаные, с низким уровнем содержания органического углерода (0,13-0,6%), кислые (рНв 5.4-5,9), слабо обеспеченные биофильными элементами.

Таблица 1. Агрохимические показатели, фракционный и механический состав почв, используемых в эксперименте.

Место отбора	Почва	$C_{орг}$, %	pH_v	pH_{KCl}	Сод. P_2O_5 (по Кирсанову) мг/100 г	Сод. K_2O , мг/100 г	Гран. состав по Качинскому. Содержание физ. глины / физ. песка (%)
г. Новый Уренгой	Глеево-подзолистая	0,60	5,4	4,4	2,81	7,18	супесчаная 6,7 / 93,3
г. Нижневартовск	Подзол иллювиально-железистый	0,86	5,7	4,3	1,22	9,45	супесчаная 12,5 / 87,5
г. Сургут	Литострат песчаный	0,13	5,9	4,5	2,62	2,55	супесчаная 12,7 / 87,3

2.1.2 Характеристика загрязнителей

Для проведения вегетационного эксперимента, в качестве загрязнителя, использовали нефть из УНГКМ. Нефть легкая, сернистая. Для проведения микрополевого и модельного эксперимента, в качестве загрязнителя, была взята нефть, полученная от МНПЗ «Капотня». Нефть средней плотности, сернистая. При апробации разработанного композитного сорбента, в качестве загрязнителя была взята смешанная нефть средней плотности, сернистая, отобранная на ЛПДС «Западный Сургут». Характеристика нефтей применяемых в исследованиях дана в таблице 2.

Таблица 2. Характеристика нефтей, использованных в экспериментах.

Место отбора нефти	Плотность г/см ³	Массовая доля серы, %
нефть из УНГКМ	0,84	0,86
нефть из МНПЗ «Капотня»	0,87	0,99
нефть из ЛПДС «Западный Сургут»	0,87	1,23

2.1.3 Характеристика биопрепарата

В экспериментальных исследованиях применяли биопрепарат «МикроБак», который разработан в лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН (зав. лаб. В.М. Боронин). Биопрепарат состоит из консорциума бактериальных штаммов родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, в том числе содержащих плазмиды, способные разлагать ПАУ. Он рекомендуется для биоремедиации почв с содержанием нефти до 15% при pH почвы от 6 до 8 и температурах от 4 до 32°C (Зиннатшина, 2019; Filonov et al., 2012).

2.1.4 Характеристики применяемых сорбентов

В ходе эксперимента использовались сорбенты натурального происхождения (не синтетические) трех классов: минеральные, углеродистые и органические, а также их смеси. Их основные характеристики приведены в таблице 3. При выборе важно учитывать следующие свойства сорбентов: горючесть, сорбционные характеристики, поглощающую способность по отношению к углеводородам, его биоразлагаемость и прочие свойства (Bandura et al., 2017).

Таблица 3. Характеристика сорбентов, использованных в экспериментах (Зиннатшина, 2019).

Сорбенты		Фракция	Описание, производство
Минеральные	Цеолит	Гранулы 2–3 мм	Цеолит природный, Нор-Кохбского месторождения, ЗАО «Зеолит Про», Волгоград
	Каолинит	Частицы <0,5 мм	Каолинит, марка КР-1 ГОСТ 19608-84. ООО Новэра, Челябинск
	Вермикулит	Гранулы 1–3 мм	Вермикулит вспученный, ГОСТ 12865-67, ООО Полимер, Иркутск
	Диатомит	Частицы <0,5 мм	Диатомит, производство ООО «Диатомовый комбинат», г. Ульяновск
Углеродистые	Активированный уголь	Гранулы 2–3 мм	Гранулированный активированный уголь марки ГАУ ВСК, г. Дзержинск
Органические	Спилсорб	Частицы до 10 мм	Пиролизированный торфяной сфагновый мох с 10% влажностью
	Торф верховой	Частицы до 15 мм	Торф верховой (ГОСТ Р 51213–98), производство ООО «ФАСКО» Московская область
	Торф низинный	Частицы до 10 мм	Торф низинный нейтрализованный, ООО «Здоровая планета»
Смешанные	АУД	разные	Смесь ГАУ и диатомита (4:1) – Смешанный сорбент АУД
	АУТ	разные	Смесь торфа верхового и ГАУ (1:1) – Композитный сорбент АУТ
	АУДТ	разные	Смесь АУД и ГАУ (1:1) – Композитный сорбент АУДТ

2.2 Методы анализа

2.2.1 Определение суммарной концентрации углеводородов нефти и промежуточных продуктов окисления в почве

Суммарную концентрацию УВН в почве определяли стандартным методом (ПНД Ф 16.1: 2.2.22-98) в нашей модификации, которая позволяет одновременно определять количество окисленных продуктов трансформации углеводородов (Vasilyeva et al., 2020). Сущность метода заключается в извлечении почвенных углеводородов нефти с помощью четыреххлористого углерода, затем отделяли УВН от полярных коэкстрактивных веществ, пропуская экстракт через колонку с окисью алюминия. Далее с помощью ИК-спектрометрии определяли концентрацию УВН в очищенном экстракте, а концентрацию окисленных производных оценивали по разнице между содержанием С-Н-производных до и после очистки. Правомерность использования этого метода была доказана в работах (Vasilyeva et al. 2020; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022).

Подготовка образцов почвы к исследованиям. Концентратомер КН-2 использовали для измерения суммарного содержания неполярных углеводородов. Его работа основана на фотометрическом методе измерения количества продуктов нефтепереработки в тетрахлориде углерода, используя инфракрасную спектральную зону с волновым диапазоном 3,42 мкм. Концентратомер КН-2 измеряет приблизительную массовую концентрацию УВН (мг/дм³) в извлечении. С калибровочной целью использовали чистый тетрахлорид углерода, а также раствор с рабочей массовой концентрацией углеводородов 100 мг/дм³, который приготовили из тетрахлорида углерода (ГСО № 7554-99). Четыреххлористый углерод, используемый для изготовления экстрактов, использовали для установления нулевого значения.

Приготовление основного раствора нефтепродуктов. Массовая концентрация основного раствора нефтепродуктов $C_0=1000$ мг/дм³. В мерную колбу объемом 50 см³ количественно вносили содержимое ампулы ГСО, с последующей пятикратной промывкой ССl₄ внутренних поверхностей ампулы и внесением этой жидкости в колбу. Для промывки использовали порции по 5 см³, которых было достаточно для того, чтобы полностью обмыть поверхности. Раствор в колбе дополняли 15 см³ ССl₄. Затем закрытую пробкой колбу ставили в термостат и выдерживали 30 мин. при температуре 20±0,5°С, после чего раствор тщательно перемешивали.

Массовая концентрация основного раствора нефтепродуктов $C_2=100$ мг/дм³. Основной раствор в количестве 10 мл вносили в мерную колбу на 100 мл, добавляли около 85 мл четыреххлористого углерода закрывали пробкой и ставили в термостат на 30 минут. После

этого добавляли в раствор колбы CCl_4 до уровня метки и вновь выдерживали в термостате не менее 30 минут и снова тщательно перемешивали.

Подготовка оксида алюминия. В фарфоровую чашку помещали оксид алюминия и прокаливали в муфельной печи, постепенно повышая температуру от ста до шестисот градусов по Цельсию (через каждые 30 минут на 100 град.), затем выдерживали 4 ч. при максимальной температуре. Сорбент охлаждали до 150 градусов, а затем помещали в эксикатор, где он охлаждался до комнатной температуры.

Прокаленный оксид алюминия в необходимом количестве в бюксе перемешивали с дистиллированной водой в количестве 3% по массе. Бюкс хорошо закрывали, встряхивали в течение нескольких минут и выдерживали сутки при комнатной температуре. Готовый сорбент может храниться не более 30 суток.

Подготовка безводного сульфата натрия. Подготовка заключается в предварительном высушивании безводного сульфата натрия в сушильном шкафу. Экспозиция составляет 8 часов при температуре 105-110°C. Затем вещество охлаждают и хранят в эксикаторе не более 30 дней.

Проведение анализа. В агатовой ступке растирают по одному грамму почвы из приготовленных образцов. Затем переносят в конические колбы на 50 мл. Далее добавляют по 30 мл CCl_4 марки ч.д.а. Ставят в шейкер и встряхивают один час. Затем подвергают фильтрованию, используя обеззоленный бумажный фильтр. Опять добавляют четыреххлористый углерод в количестве 10 мл. Дальнейшее встряхивание на шейкере длится полчаса. Фильтрование происходит в прежнюю колбу с экстрактом, который готовили ранее. Фильтры подвергаются промыванию четыреххлористым углеродом по 5 мл.

Полярные соединения отделяли от объединенного экстракта посредством колонки с заготовкой окиси алюминия (3 г). Для этого через нее пропускали 15 мл аликвоты экстракта. Далее прибор промывался 2 мл четыреххлористого углерода.

Концентратомер КН-2 («СИБЭКОПРИБОР», г. Новосибирск) служил для определения концентраций экстракционных УВН и ОУВН. Если было необходимо, а именно, показания концентратомера КН-2 должны были быть в рамках линейной зависимости от углеводородной концентрации и быть не более 1,0, экстракты разводили CCl_4 в 5 – 20 раз.

2.2.2 Определение численности углеводород-окисляющих микроорганизмов в почве

Численность углеводород-окисляющих микроорганизмов в почве определяли методом высева почвенной суспензии соответствующего разведения на агаризованную

минеральную среду (Na_2HPO_4 – 6 г.; KH_2PO_4 – 3 г.; NaCl – 0,5 г.; NH_4Cl – 1 г.), а источником углерода и энергии служили пары дизельного топлива (Теппер и др., 2004).

Почву смешивали со стерильной водопроводной водой (1:10) на шейкере в течение 30 минут. На агаризованную минимальную среду высевали разведенную суспензию 3-5-го разведения в стерильном физиологическом растворе. Далее суспензии в нужном разведении высевались на чашки Петри с минимальной агаризованной средой. Посев проводили путем нанесения на поверхность питательной среды 0,1 мл необходимой суспензии, равномерно растирая ее шпателем Дригальского до тех пор, пока не возникнет чувство трения. Шпатель Дригальского предварительно стерилизовали.

Посев каждого разведения проводили в 3 чашки. Далее на внутреннюю поверхность крышки наносили источник углерода и энергии для бактерий нефтедеструкторов. А именно, летнее дизельное топливо в количестве 0,2 мл. Его пары давали микроорганизмам все необходимое для жизнедеятельности. Лентой «Parafilm» герметично закрывали каждую чашку. После этого чашки выдерживали в термостате при 28°C в течение 4–7 сут., после чего подсчитывали число колоний. Для подсчета колоний образующих единиц (КОЕ) углеводород-окисляющих микроорганизмов (КОЕ/г) использовали следующую формулу:

$$[\text{УОМ}] = N \times 10 \times 10^{n+1} / P \quad (1),$$

где: n – соответствующее разведение; N – число колоний, продемонстрировавших рост в чашке Петри; 10 – коэффициент поправки (на 0,1 мл суспензии данного разведения), P – масса почвы естественной влажности, взятой для приготовления суспензии, в пересчете на сухую почву, в г.

2.2.3 Определение интегральной токсичности почв

В процессе биоремедиации и на заключительном этапе интегральную токсичность почв определяли с помощью двух фитотестов, а также одного биотеста на гидробионтах.

2.2.3.1 Экспресс-метод определения фитотоксичности почвы

Экспресс-метод определения фитотоксичности почв основан на определении процента гибели семян клевера белого (*T. Repens L.*) (Vasilyeva et al., 2020). Его удобно использовать на начальной стадии для выбора оптимальной дозы сорбента и контроля за процессом очистки.

Ход анализа. Свежеотобранную почву естественной влажности помещали по 40 г в чашки Петри. Параллельно с опытными образцами с загрязненной почвой приготавливали образцы с аналогичной незагрязненной почвой (например, из чистого контроля). На поверхность почвы высевали по 35 семян клевера, почву увлажняли до 70–80% ППВ, чашки закрывали крышками и инкубировали при комнатных условиях и равномерном освещении.

Для определения всхожести семян готовили три варианта чашек с фильтровальной бумагой, куда приливали 5 мл чистой водопроводной воды и высевали по 35 семян клевера. Для фитотеста использовали семена со всхожестью не менее 90–95%. В ходе инкубирования показателем достаточного увлажнения служило наличие конденсата на верхней крышке. При необходимости почву в чашке увлажняли дистиллированной водой. Через 5–7 суток подсчитывали число проросших семян. Процент гибели семян (Φ , %) определяли по формуле:

$$\Phi = 100 - N \times 100 / N_0 \quad (2),$$

где N – число проросших семян, N_0 – среднее число проросших семян в чистом контроле.

2.2.3.2 Определение фитотоксичности почвы по задержке роста корня проростков высших растений

Для оценки степени очистки почвы определяли ее фитотоксичность по задержке роста корня проростков высших растений в соответствии с международным стандартом (ИСО 11269-1).

Ход анализа. Подготовленную почву помещали в пластиковые сосуды объемом 100 мл и увлажняли до 70% ППВ, а семена пшеницы или ячменя проращивали на фильтровальной бумаге в чашках Петри в течение 1–2 суток. После появления корешков длиной 1–2 мм отсортированные семена высаживали в почву в каждый контейнер по 8 семян. Растения выращивали при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности почвы $70 \pm 5\%$ от ППВ. Через 14 суток растения извлекали, измеряли длину корня и побега. Рассчитывали среднюю величину и стандартное отклонение от среднего в каждом в опытном варианте (N) и в чистом контроле (N_0), на основании чего рассчитывали фитотоксичность по формуле (2).

2.2.3.3 Определение биотоксичности почвы с помощью *Daphnia magna*

Для оценки биотоксичности почвы использовали методику биотестирования почвенных проб. Метод основан на определении выживаемости и плодовитости *Daphnia magna* при воздействии на них токсических веществ, содержащихся в водной вытяжке из загрязненной почвы. Первый показатель определяли по смертности дафний в остром опыте, а второй – в хронической опыте (Методическое руководство..., 1996; Cornelis et al., 2001; ПНД Ф 14.1:2:4.12-06; 16.1:2.3.3.9-06).

«Для приготовления водной вытяжки из почвы использовали отстоянную в течение 6 суток и отфильтрованную через бумажный фильтр водопроводную воду. Пробу почвы массой 100 г тщательно растирали в агатовой ступке и помещали в плоскодонную колбу, добавляли 600 мл отстоянной водопроводной воды, закрывали пробкой и перемешивали с

помощью магнитной мешалки в течение 30 мин. Образовавшуюся суспензию отстаивали в течение 2 часов, затем надосадочную жидкость фильтровали через бумажный фильтр. В качестве контроля №1 использовали водную вытяжку из параллельно инкубируемой контрольной чистой почвы. Контролем №2 служила вода, используемая для приготовления почвенных экстрактов. Воду и водные экстракты разливали по 100 мл в стеклянные стаканы на 300 мл. Повторность в опыте пятикратная.

В каждый сосуд помещали по 10 односуточных дафний (молоди) и экспонировали в люминостате при температуре 18-20°C. В течение всего острого опыта дафний не кормили. Учет выживаемости проводили через интервалы времени: 1, 6, 24, 48, 72 и 96 часов. Кратковременное биотестирование (96 часов) позволяет определить острое токсическое действие водной вытяжки из почвы на дафний по их выживаемости. Показателем выживаемости служит среднее количество тест-объектов, выживших за определенное время в тестируемой водной вытяжке из почвы в сравнении с вытяжкой из чистого контроля. Критерием острой токсичности является гибель более 50% дафний за 96 часов в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Определение *хронической токсичности* проводили в тех же стаканчиках, которые использовали для острого опыта. После окончания острого опыта (через 3 суток) в каждый сосуд вносили одинаковое количество корма (раствор дрожжевого экстракта) и продолжали экспонирование в тех же условиях. Дафний кормили ежесуточно в продолжение 21 суток. В сосудах с дафниями 3 раза в неделю проводили смену контрольной и тестируемой воды на свежееотобранную. Дафний подкармливали за 3 часа до смены воды.

2.2.4 Определение водного pH почвы

Величину водного pH почвы определяли по методу, описанному в (Аринушкина, 1970). Для этого приготавливали почвенную суспензию из воздушно-сухой почвы, предварительно пропущенной через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Навеску 10 г помещали в коническую колбу на 50-100 мл и приливали 25 мл дистиллированной воды. Колбу плотно закрывали пробкой и встряхивали 5 мин. на шейкере. После отстаивания в течение 24 ч. почвенную суспензию вновь перемешивали стеклянной палочкой, переносили в стеклянный стакан на 20 мл и измеряли pH с помощью pH метра (PHS-3D pH METER, SANXIN, Chaina). Для настройки pH-метра использовали стандартные буферные растворы с pH 4,0; 7,0 и 10,0.

2.2.5 Определение дегидрогеназной активности почвы

Дегидрогеназную активность почвы определяли по методике, описанной в работе (Хазиев, 2005). Навеску почвы 1 г, помещали в колбу объемом 50 мл затем добавляли

раствор 0,1 г. CaCO_3 и 1%-ный раствор глюкозы до 90%-ного насыщения от общей влагоемкости почвы. Инкубировали в течение 24 часов при 30°C в термостате. После чего вносили по 3 мл 1%-ного раствора глюкозы и 1%-ного раствора ТТХ (2,3,5-трифенилтетразолийхлорид). Снова инкубировали 3 часа при 30°C в термостате. Далее проводили экстракцию формазана 50 мл этилового спирта. Интенсивность окраски фильтрата измеряли на фотоэлектроколориметре при длине волны 456 нм. Дегидрогеназную активность выражали в единицах оптической плотности раствора.

Для приготовления калибровочной шкалы стандартный раствор формазана разводили в этиловом спирте (0,1 мг в 1 мл), затем в мерные колбы на 25 мл отбирали соответствующее количество стандартного раствора, содержащего от 0,1 до 1 мг формазана, этанолом доводили объем раствора до метки и фотоколориметрировали.

2.2.6 Методы статистической обработки результатов анализов

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы MsEXCEL и STATISTICA 10. Средние величины, полученные в каждом опытном варианте с сорбентами, сравнивали с контрольным уровнем в варианте *K* с помощью теста Стьюдента. Различия считались значимыми при значении $p < 0,05$. Визуализацию полученных данных, проводили с помощью графиков в программе SigmaPlot 12,5. Все образцы в модельных и микрополевым эксперименте приготавливали в 3-х повторностях, а в случае полевого эксперимента, когда для закладки каждого варианта опыта использовали сосуд емкостью 40 л, отбор почвы на анализ проводили из разных точек методом квадрата.

2.3 Условия проведения экспериментов

2.3.1 Изучение влияния сорбентов разных классов на скорость разложения углеводов и интегральную токсичность глеево-подзолистой почвы, умеренно загрязненной нефтью. Вегетационный эксперимент №1

Эксперименты проводили с образцом *глеево-подзолистой почвы*, отобранной на незагрязненной территории в 5 км от УНГКМ. В эксперименте использовали нефть УНГКМ, которая классифицируется как легкая (плотность 0,84 г/см³), высоко парафинистая, сернистая. В качестве минеральных удобрений использовали азофоску (АЗФ) с содержанием 17% действующего вещества (д.в.) в пересчете на $N_{\text{сум.}}$, P_2O и K_2O . Известкование проводили с помощью доломитовой муки (ДМ), в состав которой входит по 40% CaCO_3 и MgCO_3 .

В ходе эксперимента использовали сорбенты натурального происхождения трех классов: минеральные (каолинит, цеолит, диатомит, вермикулит вспученный); органические (торф верховой нейтрализованный и Спилсорб) и углеродистые, в том числе:

гранулированный активированный уголь (ГАУ) и композитный сорбент АУД на основе ГАУ и диатомита (4:1). Последняя смесь показала наилучшие результаты в предыдущих экспериментах с серой лесной почвой (Зиннатшина и др., 2018; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022). Характеристики и свойства сорбентов приведены в Таблице 3.

В эксперименте использовали также биопрепарат «Микробак», который вносили в почву в виде биомассы свежесобранных микроорганизмов из расчета 10^7 клеток/г.

Закладка модельного вегетационного эксперимента №1 проводилась в соответствии со схемой, представленной в Таблице 4. Образец просеянной почвы весом 30 кг помещали в емкость из эмалированной стали, перемешивали, поверхностно загрязняли нефтью из расчета $7_{\text{масс.}}\%$ и оставляли в комнатных условиях на 2 суток для имитации нефтеразлива на почве. После испарения легких фракций нефти почву тщательно перемешивали и раскладывали по 250 г в пластиковые вегетационные сосуды объемом 350 мл с поддонами. Параллельно закладывали образцы с незагрязненной почвой – чистый контроль – **ЧК**.

Таблица 4. Схема закладки вегетационного эксперимента №1.

Шифр	Вариант / сорбент	Доза нефти, масс. %	Доза сорбента, масс.%	БП, кл./г	АЗФ, мг д.в./кг	ДМ, г/кг
ЧК	Чистый контроль	-	-	-	150	0,5
К	Контроль	7,0	-	2x10 ⁷	825	2,0
К1 / К2	Каолинит		1 / 2			
Ц1 / Ц2	Цеолит		1 / 2			
Д1 / Д2	Диатомит		1 / 2			
В1 / В2	Вермикулит		1 / 2			
ГАУ1 / ГАУ2 / ГАУ5	ГАУ		1 / 2 / 5			
АУД1 / АУД2 / АУД5	АУД		1 / 2 / 5			
Тв1 / Тв2 / Тв5	Торф верховой		1 / 2 / 5			2,0/2,0/2,5
Тн1 / Тн2 / Тн5	Торф низинный		1 / 2 / 5			
СС1 / СС2 / СС5	Спилсорб		1 / 2 / 5			

Во все образцы, кроме **ЧК** и контрольной почвы **К**, вносили сорбенты в дозах: 1; 2; или $5_{\text{масс.}}\%$ в соответствии со схемой, приведенной в Таблице 4. Дозы сорбентов подбирали в соответствии с нашими предыдущими результатами по влиянию сорбентов на скорость биоремедиации серой лесной почвы, загрязненной нефтепродуктами (Зиннатшина и др., 2018). Все варианты опыта приготавливали в 3-х повторностях.

Во все загрязненные почвенные образцы вносили комплексные минеральные удобрения в виде азофоски (АЗФ) и доломитовую муку (ДМ). Для этого через 1 сут. и повторно через 3 мес. в почву вносили АЗФ (275 мг д.в./кг) и ДМ (1 г/кг). Через 9,2 мес. в

варианты с максимальной дозой органических сорбентов дополнительно вносили половинную дозу ДМ. Показателем необходимости известкования служило значительное подкисление почвы в этих вариантах до $pH=5,1-5,4$. В итоге, с учетом исходного уровня углерода и биофильных элементов в почве достигнуто окончательное соотношение $C:N:P:K=60:1:0,4:0,8$. В образцы **ЧК** в самом начале эксперимента однократно вносили АЗФ в дозе 150 мг д.в./кг и ДМ – 0,5 г/кг.

Через 2 сут. после внесения удобрений и повторно через 1,3 мес. во все загрязненные почвенные образцы вносили биопрепарат «Микробак» (БП). После этого все сосуды с почвенными образцами выдерживали в условиях оранжереи при температуре воздуха от 20 до 25°C в течение 14 месяцев. Почву еженедельно увлажняли дистиллированной водой, поддерживая постоянный вес сосудов, обеспечивая уровень влажности в пределах 60–80% от ППВ, не допуская пролива воды в поддоны. Почву в сосудах (за исключением **ЧК**) ежемесячно (и перед отбором образцов) перемешивали. Контрольная почва **К** обрабатывалась так же, как и опытная. Каждый вариант закладывали в 3-х повторностях.

Образцы почвы периодически отбирали на анализ. В почве регулярно определяли суммарное содержание углеводов нефти и их окисленных производных, численность углеводород-окисляющих микроорганизмов (УОМ), водный pH и фитотоксичность почвы экспресс-методом. Кроме того, через 4, 9 и 13 мес. определяли интегральную токсичность почвы сертифицированным методом по изменению длины стеблей и корней проростков пшеницы (*Triticum vulgare*) (ИСО 11269-1).

2.3.2 Изучение влияния ряда сорбентов и их смесей на скорость разложения углеводов и интегральную токсичность подзола иллювиально-железистого, загрязненного разными дозами нефти

Для подтверждения сделанных выводов и уточнения оптимальных условий очистки для другого типа минеральных почв Западной Сибири были заложены дополнительные эксперименты в микрополевых и лабораторных условиях с подзолом иллювиально-железистым.

2.3.2.1 Микрополевой эксперимент

Микрополевой эксперимент с подзолом иллювиально-железистым закладывали на территории экспериментальной площадки ИФХиБПП РАН в сосудах из поливинилхлорида без дна размером 35х35х35 см³ (площадью 0,1 м²), которые были врыты в почву на глубину 25 см так, чтобы над поверхностью почвы оставался барьер 10 см. Из сосудов удаляли исходную почву на глубину 10 см от верхнего уровня, покрывали дно пластиковой сеткой-серпянкой и засыпали подготовленную почву слоем около 10 см, примерно по 10 кг на

сосуд в пересчете на сухой вес. Почву, за исключением чистого контроля, поверхностно загрязняли нефтью средней плотности (МНПЗ Капотня) из расчета $6_{\text{масс.}\%}$, а два образца загрязняли двойной дозой нефти из расчета $12_{\text{масс.}\%}$. Через 1 сутки после загрязнения начинали обработку почвы, чтобы приблизиться к естественным условиям, создающимся перед началом очистки почвы после аварийного разлива нефти. Кроме того, эксперимент закладывали 30 июля, чтобы таким образом смоделировать почвенно-климатические условия, создающиеся на севере Западной Сибири. В общей сложности обработка почвы и наблюдения продолжались в течение 3-х сезонов - до 27 месяцев.

В таблице 5 приведена схема закладки эксперимента. Сразу после перемешивания во все сосуды вносили доломитовую муку и азофоску. Азофоску вносили в 3 приема: 1 августа и 15 сентября 2020 г., а также 30 апреля 2021 г. из расчета суммарного соотношения С:N:P:K=50:1:0,4:0,8. Почву перемешивали на глубину всего образца, затем вносили сорбенты в 2-х установленных ранее оптимальных дозах в соответствии с Таблицей 5.

Таблица 5. Схема закладки микрополевого эксперимента

Шифр	Вариант / сорбент	Доза нефти, масс. %	Доза сорбента, масс. %	БП, кл./г	АЗФ, мг д.в./кг	ДМ, г/кг		
ЧК	Чистый контроль	-	-	-	150	0,5		
Серия 1								
НК1	Контроль 1 необрабатываемый	6	-	-	-	1,5		
К1-	Контроль 1 без БП		-	-	2x10 ⁷		1000	
К1	Контроль 1		-					
В5	Вермикулит		5					
В10			10					
ГАУ5	ГАУ		5					
ГАУ10			10					
АУД5	АУД		5					
АУД10			10					
ТВ10	Торф верховой		10					1,5
ТВ20			20					2,5
ТН10	Торф низинный		10					1,5
ТН20			20					2,5
СС10	Спилсорб		10					1,5
СС20			20					2,5
Серия 2								
К2	Контроль 2	12	-	+		1600		2,5
АУДТ20	АУДТ		20		3,0			

Заложены несколько контрольных образцов с загрязненной почвой: необрабатываемый контроль (**НК1**), образцы без биопрепарата (**К1**-) и с биопрепаратом (**К1**), а также контроль с двойной дозой нефти с внесением биопрепарата (**К2**). В качестве биопрепарата (БП) использовали препарат «Микробак», полученный в лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН на основе мезотрофных бактериальных штаммов нефтеокисляющих бактерий. БП вносили почти по все образцы с загрязненной почвой (за исключением вариантов **К1**- и **НК1**) из расчета 10^7 кл./г. Кроме биопрепарата в почву вносили сорбенты трех классов: минеральный (вермикулит) и углеродистые сорбенты (ГАУ и композитный сорбент АУД) в дозах 5 и 10%, а также органические сорбенты (торф низинный, торф верховой и Спилсорб) - в дозах 10 и 20%. В варианты с двойной дозой нефти вносили БП, при этом один из них использовали в качестве контроля (2К), а во второй вносили композитный сорбент АУДТ на основе сорбента АУД и торфа верхового (1:1) в дозе 20%. В ходе эксперимента почву ежемесячно перемешивали и по мере необходимости поливали отстоянной водопроводной водой. В конце 1-го и в середине 2-го сезона почву засевали вначале горчицей белой (*Brassica alba*), а в июне 2021 г. - травосмесью на основе райграса.

2.3.2.2. Вегетационный эксперимент №2

Схема закладки показана в Таблице 6. Цель закладки вегетационного эксперимента №2 с *подзолом иллювиально-железистым*, загрязненным 6% нефти, состояла в изучении

Таблица 6. Схема закладки вегетационного эксперимента №2.

Шифр	Вариант	Доза нефти, масс. %	Доза сорбента, масс.%	БП кл./Г	АЗФ, мг д.в./кг	ДМ, г/кг
ЧК	Чистый контроль	-	-	-	150	0,5
К1	Контроль 1	6	-	2×10^7	1000	1,5
В5	Вермикулит		5			
В10			10			
В15			15			
ГАУ5	ГАУ		5			
ГАУ10			10			
ГАУ15			15			
АУД5	АУД		5			
АУД10			10			
АУД15			15			
Тв5	Торф верховой		5			
Тв10			10			
Тв15			15			
Тн5	Торф низинный		5			
Тн10			10			

Тн15			15			2,5
АУТ15	АУТ		15			1,5
АУТ20			20			2,0
АУДТ15		АУДТ		15		
АУДТ20			20			2,0

влияния разных сорбентов в более широком составе доз на скорость биоремедиации умеренно загрязненной почвы (6% нефти).

Для того, чтобы выяснить наилучший состав композитного сорбента, в схему эксперимента включили варианты с разными смешанными сорбентами: АУД, АУТ и АУДТ. Эксперимент закладывался с образцами почвы по 1 кг, которые помещали в пластиковые вегетационные сосуды с поддонами на 1,5 л. Схема закладки эксперимента аналогична схеме микрополевого эксперимента. Все обработки почвы проводили практически с теми же дозами биопрепарата, азофоски и доломитовой муки, которые вносили параллельно срокам внесения в микрополевом эксперименте. Почву в сосудах в вегетационный период инкубировали на экспериментальной площадке под дугами с укрывным материалом, а в холодный период - в условии оранжереи при температуре 20-25°C.

2.3.2.3. Вегетационный эксперимент №3

Эксперимент №3 закладывался по схеме, представленной в таблице 7, в условиях, аналогичных предыдущему вегетационному эксперименту №2, но лишь в начале следующего сезона, после закладки микрополевого эксперимента.

Таблица 7. Схема закладки вегетационного эксперимента №3 с подзолом иллювиально-железистым.

Шифр	Вариант	Доза нефти, масс. %	Доза сорбента, масс. %	БП, кл/г	АЗФ, мг д.в./кг	ДМ, г/кг
ЧК	Чистый контроль	-	-	-	150	0,5
Серия 1						
К1	Контроль 1		-			
АУД10	АУД	11,0	10	2x10 ⁷	1600	2,5
АУД15			15			
Тв10	Торф верховой		10			
Тв15			15			
АУТ15	АУТ		15			
АУТ20			20			
АУДТ15	АУДТ		15			
АУДТ20			20			

<i>Серия 2</i>						
<i>К2</i>	Контроль 2	13,0	-	2x10 ⁷	1600	2,5
АУДТ15-2	АУДТ-2		15			
АУДТ20-2			20			

Ставилась цель выяснить преимущества композитного сорбента перед использованием других сорбентов при проведении сорбционной биоремедиации подзола иллювиально-железистого, загрязненного повышенными дозами нефти: 11 и 13%.

2.3.3 Апробация разработанного метода сорбционной биоремедиации минеральных почв Западной Сибири в полевых условиях

В ходе экспедиционных работ в районе Самотлорского нефтяного месторождения вблизи г. Сургут на территории линейной производственно-диспетчерской станции (ЛПДС) компании «Транснефть» 11.06.2021 г. был заложен эксперимент по апробации разработанного метода в условиях, приближенных к естественным. В эксперименте использовали песчаный литострат, которым покрыта болотистая территория города и окрестностей, включая ЛПДС, на глубину до 50 см. Почвенные образцы весом по 35 кг каждый помещали в 6 пластиковых емкостей объемом 40 л. Из них 5 образцов поверхностно загрязняли 15% нефти средней плотности за исключением одного контейнера с чистым контролем. В почвенные образцы, помещенные в разные контейнеры, вносили композитный сорбент (С) в дозе 10 или 20%, а также биопрепарат «Микробак» (БП) в дозе 2x10⁷ кл/г. Сорбент и БП вносили вместе и отдельно. Помимо этого, в почву вносили минеральные удобрения в виде Азофоски и доломитовую муку. Схема закладки эксперимента дана в Таблице 8.

Таблица 8. Схема закладки полевого эксперимента с литостратом песчаным на территории ЛПДС «Западный Сургут».

Шифр	Вариант	Доза нефти, масс. %	Доза сорбента, масс. %	БП, кл/г	АЗФ, мг д.в./кг	ДМ, г/кг
<i>ЧК</i>	Чистый контроль	-	-	-	-	-
<i>БП</i>	Контроль с БП	15	-	2x10 ⁷	1800	2,5
С10	АУДТ		10	-		
С20			20			
10С+БП	АУДТ+БП		10	2x10 ⁷		
20С+БП			20			

Почву периодически перемешивали и отбирали образцы на анализ для определения суммарной концентрации углеводородов нефти (УВН), смолисто-асфальтеновой фракции

(САФ), численности микроорганизмов-нефтедеструкторов и фитотоксичности экспресс-методом (Vasilyeva et al., 2020), а 20.08.2021 г. почва была засеяна травосмесью. Анализы выполняли как в лаборатории ООО «Транснефть», так и в лаборатории ИФХиПП РАН.

Наблюдения на экспериментальной площадке ЛПДС продолжались до середины осени 2021 г., однако, из-за снежной зимы 2021-2022 гг. емкости с образцами почвы на территории ЛПДС были разрушены. Тем не менее, эксперимент был продолжен до конца 2022 г. в лабораторных условиях с образцами, отобранными из экспериментальных сосудов еще в конце 1-го сезона и доставленными в лабораторию Института. Из каждого образца, отобранного из одного сосуда, было приготовлено по 3 образца по 0,5 кг почвы и помещено в пластиковые сосуды на 1 л. Сосуды инкубировали в условиях оранжереи при 20-25°C еще в течение 18 месяцев, т.е. всего наблюдения продолжались 14 месяцев. В самом начале лабораторного эксперимента и повторно через 9 мес. после начала обработки в почву дополнительно вносили азофоску и доломитовую муку. Через 8 и 12 месяцев почву засеивали смесью газонных трав, которые выращивали в течение 1 месяца, после чего сосуды фотографировали, а травы удаляли и определяли их биомассу. Кроме того, через 10 и 15 мес. проводили анализы для оценки *интегральной токсичности* почвы с помощью фитотеста на длине корней и стеблей на проростках ячменя, а также с помощью биотеста на дафниях.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Влияния сорбентов разных классов на скорость разложения углеводов и интегральную токсичность глеево-подзолистой почвы, умеренно загрязненной нефтью. Вегетационный эксперимент №1

Результаты вегетационного эксперимента №1 с глеево-подзолистой почвой, отобранной на территории ЯНАО приведены на рис. 10-13. На рис. 10 показано влияние максимальной дозы (2%) минеральных и двух максимальных доз (2 и 5%) органических сорбентов на фоне внесения биопрепарата Микробак на динамику изменения концентрации УВН и ОУВН в нефтезагрязненной почве в течение 14 мес. инкубирования в сравнении с контролем *К*, обработанным одним биопрепаратом.

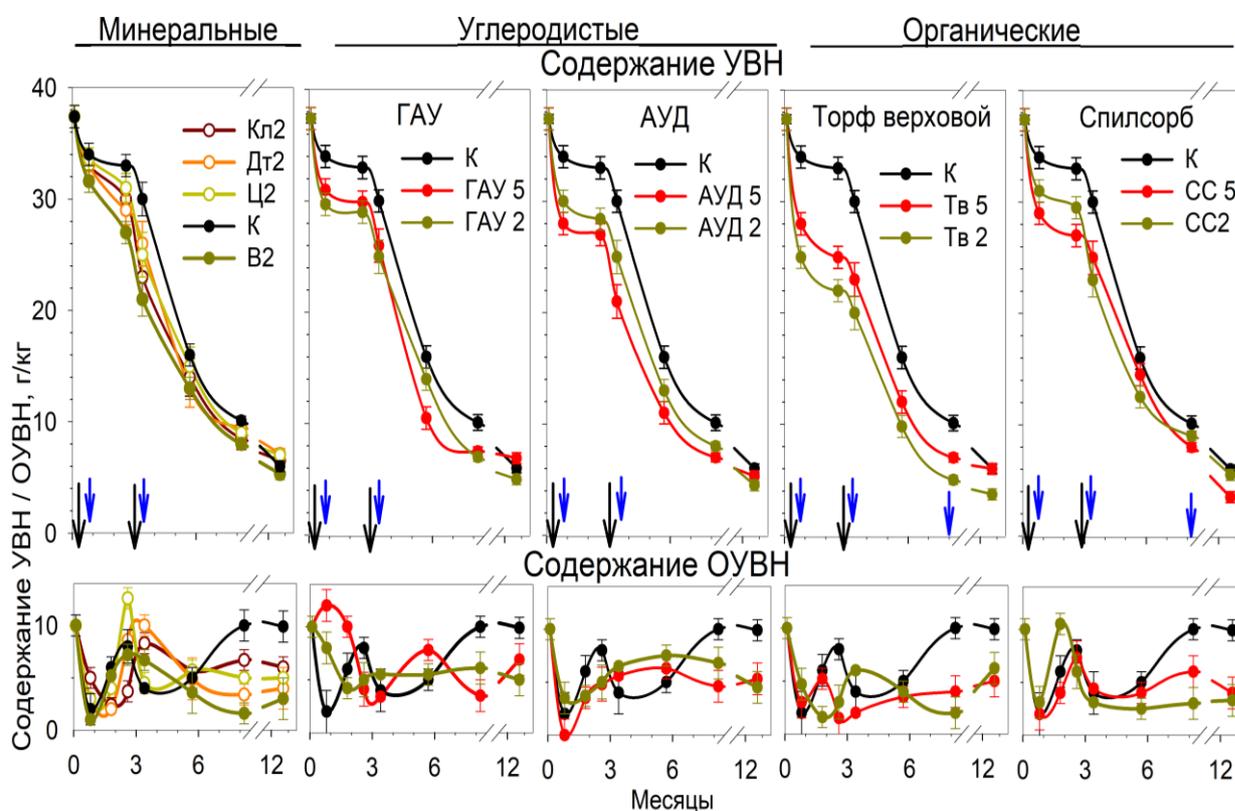


Рис. 10 Влияние добавок минеральных сорбентов (каолинит, диатомит, цеолит, вермикулит) в дозе 2%, а углеродистых (ГАУ и АУД) и органических (торф верховой и Спилсорб) в дозах 2 и 5% на динамику изменения концентрации УВН и ОУВН в ГП почве, загрязненной 6% легкой нефти, в ходе биоремедиации на фоне внесения биопрепарата Микробак (в условиях *вегетационного эксперимента №1*). Шифр образцов соответствует Таблице 4.

На рис. 11 показано влияние тех-же сорбентов на динамику изменения водного рН почвы, а также численности УОМ в почве и ее фитотоксичности, оцененной экспресс-методом. Динамики изменения этих параметров с меньшими дозами сорбентов мало

отличались от контроля или занимали промежуточное положение, поэтому на графиках не представлены.

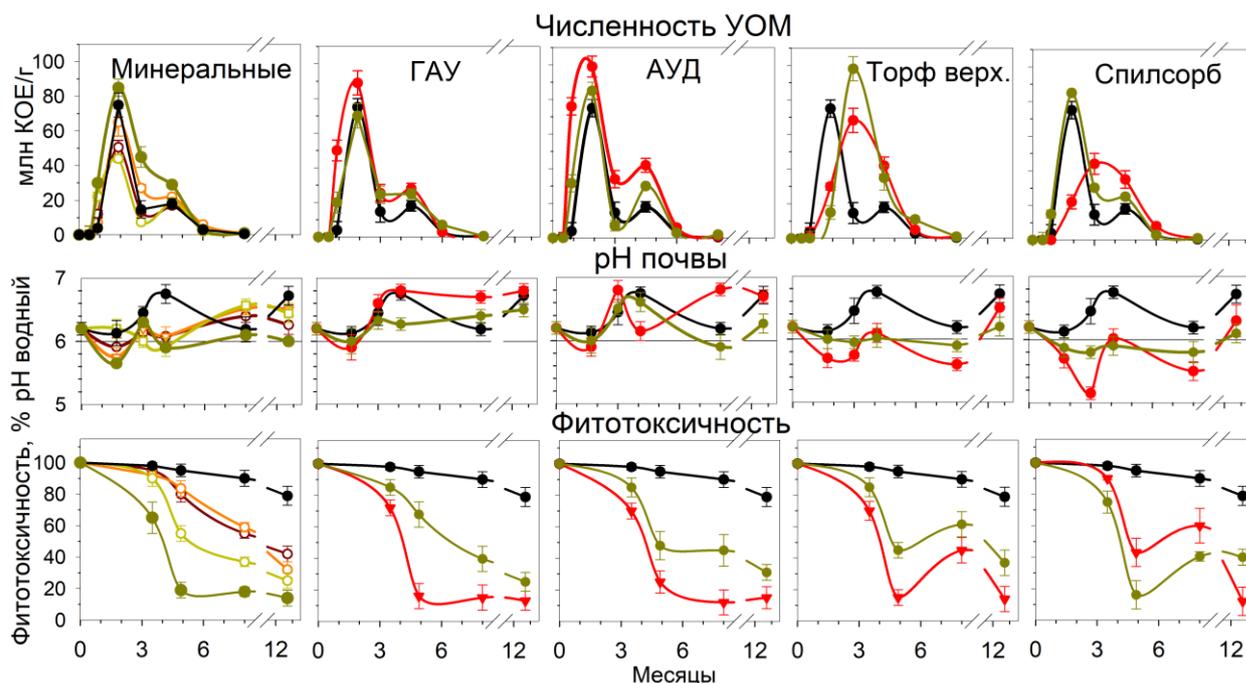


Рис. 11 Влияние добавок 2% минеральных сорбентов (каолинит, диатомит, цеолит, вермикулит), а также 2 и 5% углеродистых (ГАУ и АУД) и торфянистых (торф верховой и Спилсорб) на динамику численности УОМ, рН и фитотоксичность почвы, оцененной экспресс-методом, в глеево-подзолистой почве, загрязненной 6% легкой нефти, в ходе биоремедиации на фоне внесения биопрепарата Микробак (в условиях *вегетационного эксперимента №1*). Легенда та-же, что на рис. 10.

Разложение углеводородов нефти в почве. Исходное содержание УВН в почве в самом начале эксперимента равнялось $37,2 \pm 1,8$ г/кг, а ОУВН – $10,1 \pm 0,4$ г/кг. В ходе наблюдений разложение УВН проходило в 2 этапа, первый длился примерно 3 месяца, а второй – до конца эксперимента. Начало второго, более ускоренного, этапа разложения совпало с повторным внесением азофоски и доломитовой муки. В *контрольной почве К* содержание УВН через 3 мес. снизилось до $32,1 \pm 1,2$ г/кг (т.е. на $13,7 \pm 3,2\%$), а через 14 мес. – до $5,9 \pm 0,5$ г/кг, т.е. в общей сложности на $84,1 \pm 1,3\%$.

Было установлено, что сорбенты в разной степени влияли на скорость деградации УВН. Внесение большинства *минеральных сорбентов* (каолинит, диатомит и цеолит) в дозе 2% незначительно повлияло на снижение концентрации УВН, как и на другие показатели. К концу наблюдений содержание УВН почти во всех образцах (за исключением варианта с вермикулитом) колебалось в интервале 7,0–8,9 г/кг, а разница между этими величинами и контролем *К* была недостоверной. Только в варианте с 2% вермикулита уже в первые

месяцы обработки наблюдалось ускоренное разложение УВН, хотя к концу наблюдений та разница также нивелировалась.

Внесение органических или углеродистых сорбентов (торф, Спилсорб, ГАУ и АУД) в средней и максимальной дозах (2 и 5%) более существенно ускоряло разложение УВН в почве. На первом этапе их концентрация в этих образцах снизилась на 20–44%, т.е. сильнее, чем в **К**. Однако к концу эксперимента (через 14 мес.) концентрация УВН в большинстве образцов колебалась в интервале 5,3–6,9 г/кг, и лишь в вариантах СС-5, Т-2, и АУД концентрация УВН ($3,5 \pm 0,3$; $3,7 \pm 0,2$ и $4,5 \pm 0,3$ г/кг соответственно) была достоверно ($p < 0,05$) ниже в (1,3–1,7 раз), чем в **К**, а суммарное разложение УВН достигало 88–91%.

Во всех почвах снижение концентрации УВН сопровождалось значительным колебанием содержания ОУВН. Как правило, после первоначального снижения ОУВН до минимума (с 10,2 до 1–2 г/кг) наблюдалось их временное накопление с последующим снижением. Повторное увеличение содержания ОУВН совпало с дополнительным внесением азофоски и доломитовой муки. При этом, к концу эксперимента содержание ОУВН в контроле было наиболее высоким – около 10 г/кг, что почти вдвое превышало остаточное количество УВН. В то же время в присутствии практических всех сорбентов, конечные концентрации ОУВН, как правило, были значительно ниже: от 2 до 5 г/кг.

рН почвы. В течение всего эксперимента водный рН чистой почвы ЧК (на графике не показан) и контрольной К колебался в интервале 6,0–6,7, чему способствовало внесение достаточного количества ДМ, которая нейтрализовала минеральные кислоты, обычно накапливающиеся при избыточных дозах минеральных удобрений (рис. 11). В присутствии минеральных сорбентов рН почвы колебался почти в тех же пределах что и в контроле, за исключением небольшого подкисления (до рН 5,7–5,9) в первые 2 мес. в вариантах с максимальной дозой каолинита и диатомита. В то же время, углеродистые сорбенты, наоборот, несколько повышали рН почвы за счет присутствия в их составе зольных элементов: в основном Са и Mg. Органические сорбенты (особенно максимальная доза торфа верхового, и еще более Спилсорба) значительно подкисляли почву, снижая рН до 5,6 и 5,0 соответственно. Этот эффект объясняется накоплением органических кислот в результате биodeградации самих органических сорбентов под действием высоких доз минеральных удобрений (Васильева и др., 2013). И лишь дополнительное внесение в эти почвы доломитовой муки через 9 мес. позволило выровнять их рН к концу наблюдений.

Численность УОМ. Из рис. 11 следует, что во всех почвах период интенсивного снижения концентрации УВН на первом этапе совпадал с процессом резкого повышения численности УОМ по сравнению с чистым контролем **ЧК**, где численность УОМ после

внесения азофоски повысилась на порядок: с 0,01 до 0,12 млн КОЕ/г. В загрязненных почвах динамика численности нефтедеструкторов имела 2 основных максимума: через 2–2,5 и 3–5 месяцев. В контроле К во время первого максимума их численность достигала 75 ± 4 млн КОЕ/г, а второго – 21 ± 2 млн КОЕ/г, но затем, в период с 6 до 8 мес. численность УОМ опустилась до уровня 0,5–3,1 млн КОЕ/г, но оставалась повышенной по сравнению с чистой почвой.

В большинстве образцов с сорбентами динамика численности УОМ мало отличалась от контроля К. Исключение составили варианты с В-2, Т-2, а также ГАУ-5 и АУД-5, в которых численность нефтедеструкторов в период первого максимума была достоверно выше, чем в контроле, и варьировала от 85 до 99 млн КОЕ/г. Однако, численность УОМ в варианте СС-5 в период первого максимума была вдвое ниже, чем в варианте СС-2 или в контроле, что объясняется значительным подкислением почвы до $\text{pH} < 6,0$.

Снижение численности нефтедеструкторов после первого максимума связано, очевидно, с недостатком биофильных элементов либо с повышением кислотности почв. Однако, после дополнительного внесения азофоски и доломитовой муки разложение УВН возобновилось, а численность УОМ вновь временно возросла. Пониженные вторичные максимумы численности нефтедеструкторов во всех вариантах можно объяснить меньшей биодоступностью остаточных УВН с большей молекулярной массой.

В период первого максимума повышенная по сравнению с контролем численность нефтедеструкторов в вариантах В-2, Т-2, ГАУ-5 и АУД-5 объясняется более благоприятными условиями для активации УОМ благодаря снижению токсичности почвы в результате сорбции углеводородов и/или меньшего накопления токсичных метаболитов на фоне поддержания оптимальной кислотности почвы (Михедова и др., 2020). Другим фактором положительного влияния сорбентов является существенное повышение влагоемкости и пористости нефтезагрязненных почв, а также снижение их гидрофобности, что было продемонстрировано в наших предыдущих экспериментах с серой лесной почвой, загрязненной нефтью (Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022). Это объясняется прежде всего высокой пористостью и нефтеемкостью вермикулита, торфа, Спилсорба и ГАУ (Таблица 4). В случае композитного сорбента АУД положительную роль могут оказывать также добавки диатомита за счет выделения моно- и/или поликремниевых кислот, которые снижают гидрофобность почв (Vasilyeva et al., 2020; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022). В то же время более низкий максимум численности УОМ в почве с 5% торфа и, особенно, Спилсорба обусловлен, очевидно, значительным подкислением почвы – до $\text{pH} 5,0–5,1$. Однако своевременное внесение доломитовой муки через 3 месяца нейтрализовало это подкисление и обеспечило условия для повторной активации УОМ. Результаты

согласуются с выводами, сделанными в обзоре (Neina et al., 2019) о наибольшей скорости процесса биоремедиации нефтезагрязненных почв при pH в интервале 6,5–8,0.

Ранее мы показали, что внесение в почву ГАУ или смешанного сорбента АУД значительно снижало токсичность почв, загрязненных сырой нефтью или дизельным топливом, что сопровождалось ростом численности нефтеразлагающих микроорганизмов и ускорением процесса биоремедиации почвы (Semenyuk et al., 2014; Kondrashina et al., 2018). Этот эффект был особенно выражен в сильно загрязненной почве – до 150 г/кг (Vasilyeva et al., 2020). Aziz и соавт. (Aziz et al., 2020) также подтвердили, что снижение УВН в почве с добавками биоугля объясняется их биодegradацией, а не необратимой сорбцией. В других публикациях также была продемонстрирована более высокая популяция нефтеразлагающих микроорганизмов в загрязненных нефтью почвах с добавками биоугля или ГАУ (Agarry et al., 2015; Hussain et al., 2018; Dike et al., 2021), а также в морских отложениях с добавлением нескольких минералов (перлит, вермикулит, цеолит, кремнезем) с иммобилизованными микроорганизмами (Junusmin et al., 2018).

Дополнительные механизмы могут быть задействованы при ускорении биодegradации нефти в почвах, обогащенных углеродистыми или органическими сорбентами, такими как биоуголь и торф. Установлено, что эти сорбенты являются источником растворенных органических молекул, подобных нефтяным углеводородам, которые могут стимулировать рост аборигенных микроорганизмов, утилизирующих углеводороды (Bao et al., 2020; Dike et al., 2021).

Фитотоксичность почвы. Наиболее сильное влияние оказали сорбенты на изменение фитотоксичности почв, оцененной экспресс-методом (рис. 11). Фитотоксичность контрольной почвы *K* снижалась очень медленно и к концу инкубирования оставалась еще очень высокой – $74 \pm 5\%$. Внесение большинства минеральных сорбентов (кроме вермикулита) в максимальной дозе обеспечило снижение фитотоксичности до 33–55% через 5 мес., но до конца наблюдений этот показатель оставался еще повышенным: 25–41%. Наиболее существенное снижение фитотоксичности почв наблюдалось в образцах с добавками 2% вермикулита, а также 5% органических и углеродистых сорбентов, в которых уже через 4–5 мес. эта величина снизилась до минимума – <10–20% и оставалась низкой до конца наблюдений. При этом, процесс снижения фитотоксичности начинался через 3 мес., то есть только после разложения образовавшихся токсичных промежуточных продуктов окисления углеводородов. Максимальное снижение фитотоксичности почв в присутствии оптимальных доз сорбентов объясняется более быстрой биодеструкцией УВН и/или их

метаболитов, либо сорбцией токсичных ОУВН в пористой структуре сорбентов (Васильева и др., 2015).

Другим фактором, повышающим фитотоксичность почв, является их подкисление, что особенно характерно для высоких доз органических сорбентов из-за накопления органических кислот при разложении самих сорбентов. Однако, дополнительное известкование этих почв с добавками органических сорбентов через 3 и 9,2 мес. обработки обеспечило их нейтрализацию и последующее снижение фитотоксичности.

Сделанные выводы подтверждаются результатами определения интегральной токсичности почв, оцениваемой *сертифицированным методом* по показателям роста проростков пшеницы (ГОСТ Р ИСО ISO 11269-1: 2012).

На рис. 12 приведены фотографии проростков пшеницы (*Triticum vulgare*), посеянной через 5 и 9 мес. в загрязненную почву с добавками 2-х максимальных доз всех изученных сорбентов в сравнении с контрольными почвами *К* и *ЧК*.

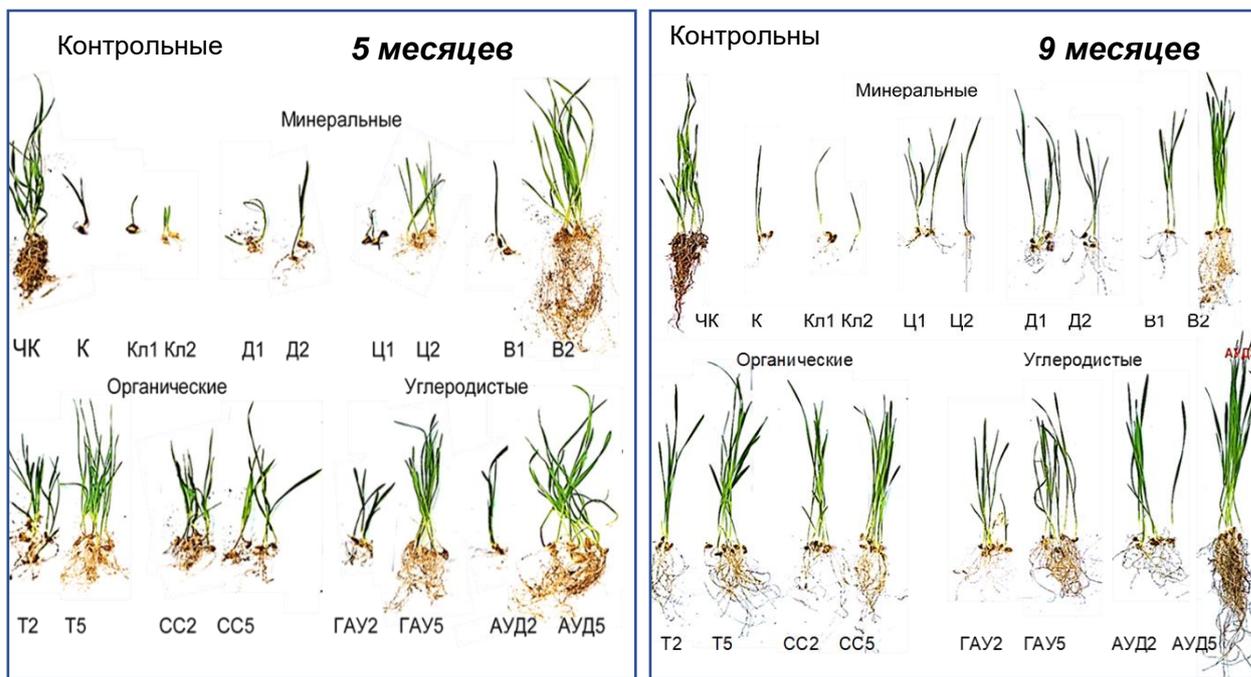


Рис. 12 Фотографии 2-х-недельных проростков пшеницы (*Triticum vulgare*), посеянной в экспериментальные сосуды через 9 мес. после начала биоремедиации образцов глеево-подзолистой почвы, загрязненной 6% нефти, при внесении биопрепарата Микробак и двух максимальных доз минеральных сорбентов (1 и 2%), а также углеродистых и органических сорбентов (2 и 5%) в сравнении с загрязненным контролем без сорбентов (*К*) и чистым контролем (*ЧК*). Шифры сорбентов те же, что и в Таблице 4.

В контроле *К*, даже через 9 мес. рост растений сильно ингибировался. Добавки большинства минеральных сорбентов лишь немного улучшали рост проростков, но в присутствии 2% вермикулита уже через 5 мес. они существенно отличались от контроля более развитой корневой системой и надземной массой. Более сильное влияние на рост

растений оказало внесение органических и углеродистых сорбентов в дозах 2% и, особенно, 5%. При этом почва большинства образцов оставалась гидрофобной, так как на корнях растений, вынутых из нефтезагрязненной почвы, не отмечено налипания почвенных частиц, характерного для чистой почвы. Лишь в почве с добавками максимальной дозы (5%) смешанного сорбента АУД корни имели наиболее естественный вид. С данными, представленными на фотографиях, хорошо согласуются количественные показатели фитотестирования на проростках пшеницы (*Triticum vulgare*), посеянной через 9 и 13 мес. инкубирования (рис. 13).

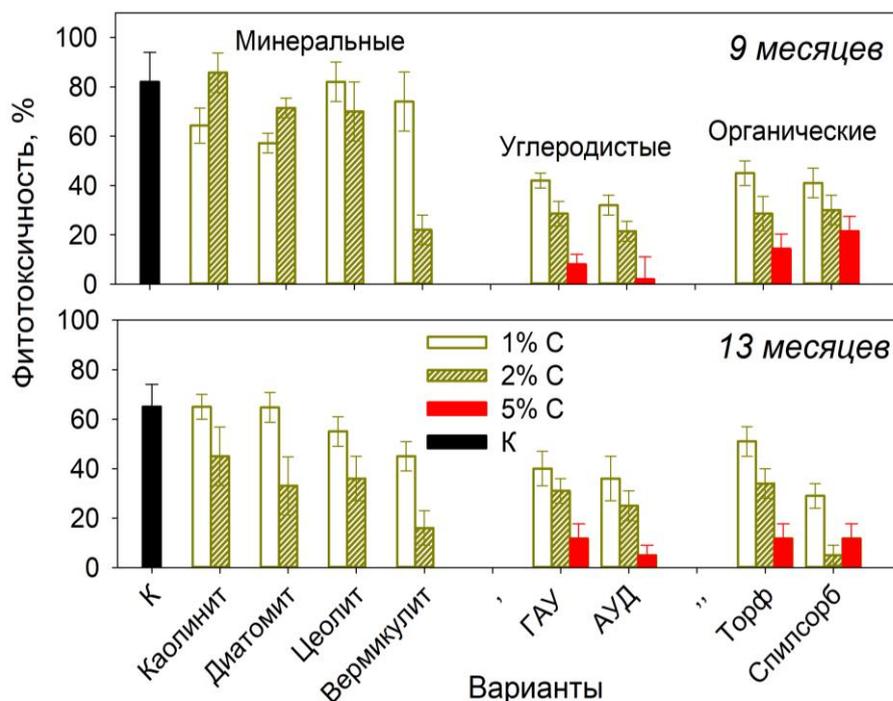


Рис. 13 Влияние трех доз минеральных, органических и углеродистых сорбентов в комбинации (1, 2 и 5%) в комбинации с биопрепаратом Микробак на фитотоксичность почв, определенную по длине корней проростков пшеницы (*Triticum vulgare*), высеванной через 9 и 13 мес. после начала биоремедиации глеево-подзолистой почвы, искусственно загрязненной 7% нефти в сравнении с фитотоксичностью контрольной почвы *К* без сорбентов.

Из минеральных сорбентов наилучшее влияние оказало внесение 2% вермикулита, которое снизило фитотоксичность почвы до 21 ± 5 и $18 \pm 5\%$ соответственно. Все дозы органических и углеродистых сорбентов (особенно максимальная – 5%), внесенных в загрязненную почву, ускоряли рост корня пшеницы по сравнению с контролем. При этом наилучшие результаты получены в варианте с 5% АУД, где фитотоксичность почвы уже через 9 мес. была незначительной.

В наших предыдущих экспериментах по биоремедиации *суглинистой серой лесной почвы* при аналогичном загрязнении нефтью или нефтепродуктами (исходное содержание УВН 47–52 г/кг) были получены аналогичные результаты по скорости снижения суммарной

концентрации УВН. К концу 2-го сезона обработки содержание УВН в контрольных почвах снизилось до 7–9 г/кг, а в присутствии сорбентов – до 5–6 мг/кг. Тем не менее, фитотоксичность СЛ почвы за тот же период снизилась более существенно, чем глеево-подзолистой почвы: в контроле без сорбентов с 85–95% до 25–45%, а в присутствии сорбентов – до минимума: <10–20%. При этом положительный эффект обеспечивало внесение более низких доз сорбентов – 0,5–2%, чем в данном эксперименте, т.е. в случае загрязненной СЛ почвы оптимальное весовое соотношение сорбента к нефтяному загрязнению равнялось **(0,1÷0,4):1** (Зиннатшина и др., 2018; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022).

С другой стороны, из-за низкой буферности слабогумусированных почв легкого гранулометрического состава, к которым относится *глеево-подзолистая супесчаная почва*, при таком же уровне загрязнения и аналогичных условиях очистки наблюдалась более высокая фитотоксичность по сравнению с СЛ почвой. Даже после 2-х сезонов обработки методом биоремедиации путем двукратного внесения биопрепарата Микробак и создания питательного режима и гидротермических условий, близких к оптимальным, в контрольной глеево-подзолистой почве **К** растения сильно ингибировались и/или погибали. Однако, при проведении биоремедиации этой же почвы на фоне внесения натуральных сорбентов (вермикулит, торф, Спилсорб, ГАУ и АУД) в оптимальных дозах при условии поддержания оптимальной кислотности почвы через 14 мес. обработки в ней достигались статистически ($p < 0,05$) более низкие (в 1,5–2,5 раз), чем в контроле остаточные концентрации УВН, а также их окисленных производных ОУВН.

Еще сильнее в присутствии этих сорбентов снижалась фитотоксичность глеево-подзолистой почвы. При этом наилучшие результаты были получены в вариантах с внесением 2–5% сорбентов, т.е. при весовом соотношении дозы сорбента к сумме поллютантов (УВН+ОУВН) примерно **(0,4÷1):1**. При этом наиболее обнадеживающие результаты были продемонстрированы с внесением 5% смешанного сорбента АУД, состоящего из ГАУ и диатомита (4:1), который обеспечивал наилучшее развитие корневой системы трав в очищаемых почвах. Можно предположить, что на следующем этапе доочистки почв с помощью фиторемедиации в образцах с добавками сорбентов создадутся условия для развития густого растительного покрова, что будет способствовать дальнейшему снижению остаточных количеств УВН и их метаболитов.

На сегодняшний день не существует единого документа, регламентирующего уровень ОДК для нефтяных загрязнений. Министерство природы в 1993 г. для определения размера ущерба от загрязнения нефтью и нефтепродуктами установило ОДК для всех почв РФ на

уровне <1 и <2 г/кг, соответственно (Порядок определения..., 1993). Однако при этом не учитывалась разная способность почв к самоочищению в зависимости от свойств почвы, климатических условий и характера загрязнения. Пиковский с соавт. (2003) предложили дифференцированный подход к установлению ПДК. Авторы выделяют пять основных зон на территории РФ по способности самоочищения от нефти и нефтепродуктов. В соответствии с их классификацией, территории, находящиеся на самом *севере Азиатской части России (включая ЯНАО)*, относятся к *мерзлотно-тундрово-таежному региону*, почвы которого обладают самым низким потенциалом самоочищения, т.е. характеризуются низкой скоростью деградации углеводородов и слабым рассеиванием. Для почв этой территории, где преобладают тундрово-глеевые, суглинистые, глинистые, тундрово-болотные почвы, предлагается вести ОДК для легких нефтепродуктов на уровне $2,0$, а для тяжелых – $0,7$ г/кг. Такие же уровни ОДК предлагаются в книге Ю.С. Другова и А.А. Родина (2007).

В наших экспериментах остатки углеводородов в рекультивированных нефтезагрязненных почвах, по-видимому, можно отнести к тяжелым фракциям УВН. Однако, к концу 2-го сезона нам удалось снизить уровень содержания УВН в почве наилучшего варианта с 5% АУД лишь до $2,7 \pm 0,5$ г/кг, что существенно выше предлагаемого уровня ОДК. Тем не менее, в этих и других образцах с добавками некоторых сорбентов были созданы условия для устойчивого роста растений (Михедова и др., 2023).

В ряде работ, посвященных изучению рекультивацию нефтезагрязненных почв в нефтедобывающих районах Сибири, предлагается считать рекультивацию нефтезагрязненных минеральных почв завершенной только после создания густого и устойчивого травостоя при условии достижения концентрации остаточных нефтепродуктов в среднем по участку <15 г/кг (Середина и др., 2006; Зиннатшина, 2019). С этими выводами согласуются предложения ряда авторов, указывающих на необходимость экосистемного подхода при оценке безопасного уровня остаточных количеств углеводородов нефти в почве, когда учитываются не только количественные показатели загрязнения почв углеводородами, но и *интегральные показатели их токсичности* (Капелькина и др. 2014; Терехова и др., 2016). В соответствии с санитарными правилами (СП 2.1.7.1386-03) при оценке эффективности рекультивации химически загрязненных почв, наряду с определением остаточных концентраций поллютантов в почве необходимо учитывать интегральную токсичность почвы с помощью стандартных методов фитотестирования (по длине корней и биомассе травянистых растений), а также с помощью биотестов на гидробионтах (Терехова и др., 2017).

Выводы. На основании вегетационного эксперимента №1 был сделан вывод о том, что на фоне внесения биопрепарата Микробак, практически все исследуемые сорбенты оказывают положительное влияние на скорость биоремедиации глеево-подзолистой почвы, загрязненной 7% легкой нефти, но этот эффект заметен только в первые месяцы обработки. Однако, через 14 мес. концентрация УВН во всех почвах снизилась с 47 до 4–8 г/кг, а разница между вариантами стала незначительной. Тем не менее, к этому времени контрольная глеево-подзолистая почва проявляла еще высокую фитотоксичность. Учитывая изменение всех свойств почвы, был сделан вывод о том, что наиболее эффективное ускорение биодegradации углеводородов нефти и детоксикации глеево-подзолистой почвы, загрязненной 7% нефти, происходит в почве с добавками смешанного сорбента АУД на основе ГАУ и диатомита. Его внесение в соотношении (0,4÷1):1 к суммарному содержанию УВН и ОУВН создает благоприятные условия для активации микроорганизмов-нефтедеструкторов (аборигенных и инокулированных) за счет сорбции токсичных метаболитов и поддержания кислотности в оптимальном интервале рН.

3.2. Влияние ряда сорбентов и их смесей на скорость биоремедиации подзола иллювиально-железистого, загрязненного разными дозами нефти

3.2.1. Микрополевой эксперимент

На рис. 14 приведены фотографии сосудов в ходе микрополевого эксперимента по сорбционной биоремедиации загрязненной сырой нефтью подзола иллювиально-железистого, а на рис. 15-17 приведены результаты микрополевого эксперимента.



Рис. 14 Вид сосудов в ходе эксперимента по сорбционной биоремедиации загрязненного нефтью подзола иллювиально-железистого *в микрополевых условиях*: до начала обработки, сразу после загрязнения сырой нефтью, в момент внесения добавок, а также через 2 недели после посева горчицы.

В образцах *Серии 1* (рис. 15) при умеренном загрязнении почвы (исходно $31,8 \pm 1,3$ г/кг УВН и $10,1 \pm 2,1$ г/кг ОУВН) *разложение УВН* в контроле *K1* протекало сравнительно быстро, и за первые 3 месяца концентрация УВН снизилась до $9,9 \pm 0,2$ г/кг (т.е. на 70%), а ОУВН – до $5,6 \pm 1,3\%$ (т.е. на 45%), затем разложение замедлилось, и к концу 3-го сезона остаточные концентрации УВН снизились до $6,8 \pm 0,5$ г/кг. Внесение всех 3-х классов сорбентов ускорило разложение УВН лишь в первые 2–4 мес., но к концу наблюдений остаточные концентрации УВН в этих вариантах колебались в пределах от 5,5 до 7,0 г/кг, а разница между этими величинами в опытных образцах и контрольном была статистически ($p < 0,05$)

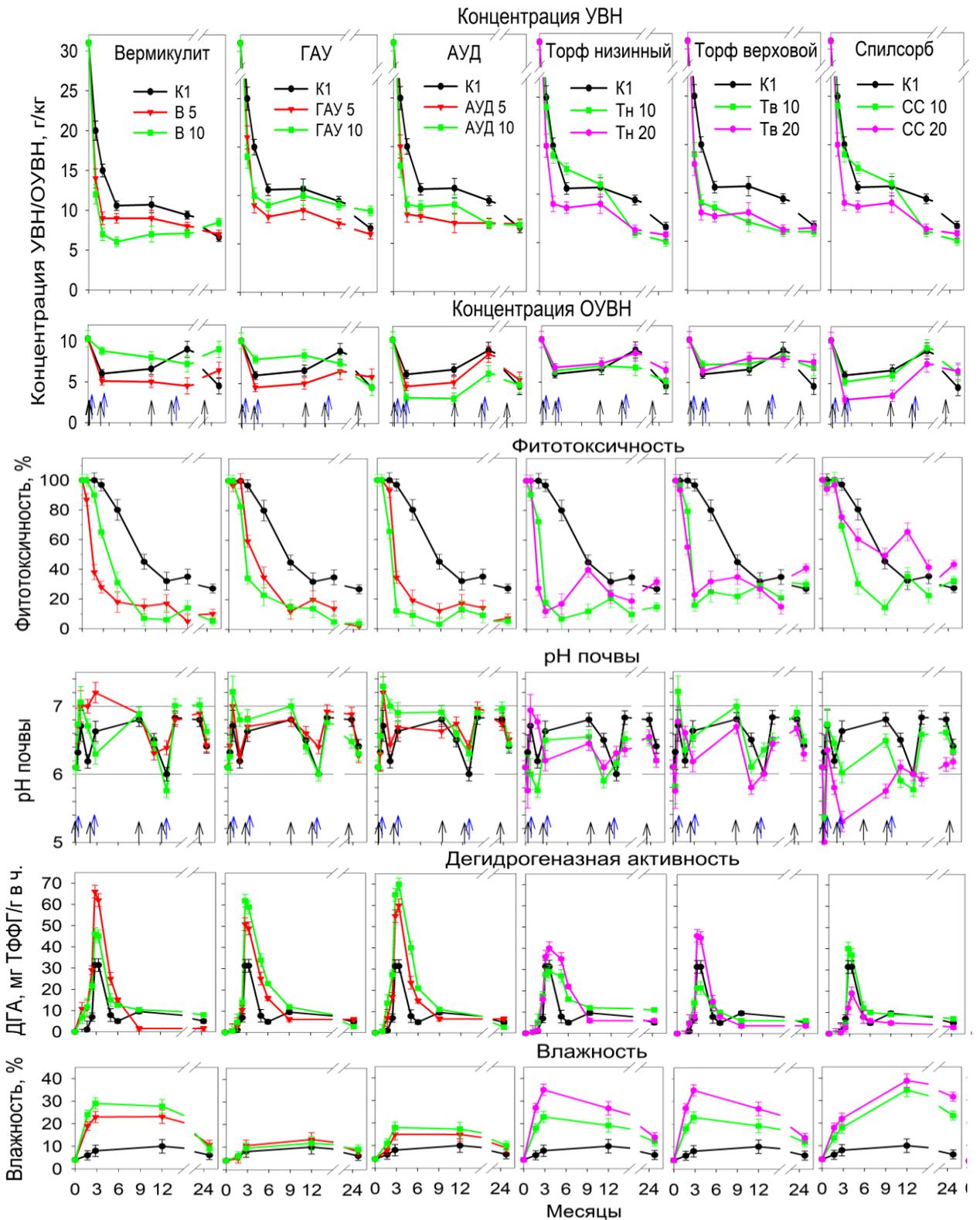


Рис. 15 Влияние вермикулита, ГАУ и АУД, внесенных в дозах 2 и 5%, а также двух доз (5 и 10%) торфа низинного, торфа верхового и Спилсорба на динамику изменения свойств подбюра иллювиально-железистого почвы, загрязненной 6% сырой нефти, в сравнении с контрольной почвой без сорбентов *K1* в ходе биоремедиации на фоне внесения биопрепарата Микробак *в условиях микрополевого эксперимента*. Измерялись: концентрация УВН и ОУВН, фитотоксичность, оцененная экспресс-методом, водный рН почвы, ее дегидрогеназная активность и влажность. Черными стрелками показано время

внесения азофоски, а синими – доломитовой муки. Шифры образцов соответствуют Таблице 5.

незначимой. В большинстве случаев разница между *накоплением ОУВН* в опытных и контрольных вариантах была незначительной и лишь в присутствии 10% АУД во все сроки накапливалось значительно меньшие (в 2–3 раза) концентрации ОУВН, чем в *К1*.

При этом другие свойства почв с сорбентами отличались от контрольного уровня более существенно. В первые 4 месяца почва *К1* проявляла заметную *фитотоксичность* – от 80 до 100%. Затем она постепенно снижалась, но даже на 2-й и 3-й год обработки фитотоксичность контрольной почвы оставалась повышенной: 35 ± 5 и $27 \pm 3\%$ соответственно. В то же время, внесение практически всех исследованных сорбентов резко снизило фитотоксичность почвы уже в первые месяцы до малотоксичного уровня – $<20\%$. Однако в присутствии обоих видов торфа и, особенно, Спилсорба, фитотоксичность вновь временно повышалась.

Колебания фитотоксичности согласуются с изменением *pH почвы*. Этот показатель в присутствии 5 и 10% вермикулита, ГАУ и АУД колебался, в основном, в пределах pH от 6,0 до 7,3. Однако добавки органических сорбентов в дозе 10 и еще более 20%, особенно после внесения минеральных удобрений, способствовали резкому подкислению почвы до pH от 5,0 до 5,7. Наиболее сильно pH снижался в варианте с 20% Спилсорба. В большинстве случаев подкисление почвы сопровождалось повышением фитотоксичности, и лишь своевременное внесение доломитовой муки обеспечивало нейтрализацию избыточной кислотности почвы, что сопровождалось снижением ее фитотоксичности.

В общей сложности для поддержания pH, близкого к нейтральному, в почвенные образцы, загрязненные 6% нефти, было внесено ДМ количеств 1,5 г/кг за исключением образцов с максимальной дозой органических сорбентов, потребовалось внести в 1,7 раз более высокие дозы ДМ, несмотря на это в некоторые сроки наблюдалось сильное закисление почв до $pH < 6$.

Период наиболее быстрого снижения концентрации УВН сопровождался повышением *дегидрогеназной активности* почвы во всех вариантах, и наиболее сильно в присутствии большинства сорбентов. Величина ДГА достигала максимума через 3-3,4 мес., после чего она снизилась, а в период с 9 до 27 мес. регистрировалось лишь небольшое превышение ДГА по сравнению с чистой почвой. В контроле *К1* значение максимум ДГА достигал уровня 31 ± 2 мг ТФФ/г в ч., в вариантах с вермикулитом и углеродистыми сорбентами максимальное значение ДГА было в 1,5–2 раза выше и достигало 47–69 мг ТФФ/г в ч. В то же время в присутствии органических сорбентов максимальное значение ДГА варьировало в пределах от 22 до 46 мг ТФФ/г в ч, что также можно объяснить снижением активности

микроорганизмов из-за сильного подкисления почвы, особенно в присутствии 20% Спилсорба. Иная картина наблюдалась при измерении *полевой влажности почвы*. По повышению влажности нефтезагрязненной почвы сорбенты располагались в ряду: ГАУ < АУД < Вермикулит < Торф низинный = Торф верховой < Спилсорб, а степень повышения влажности увеличивалась пропорционально дозе сорбента.

В образцах *Серии 2* с сильно загрязненной почвой (12% нефти) были получены аналогичные, но еще более яркие результаты. На рис. 16 приводятся динамики изменения всех изученных свойств почв в вариантах *Серии 2* (*К2* и 20% АУДТ), которые сравниваются с наилучшими вариантами *Серии 1* (*К1*, 5 и 10% АУД).

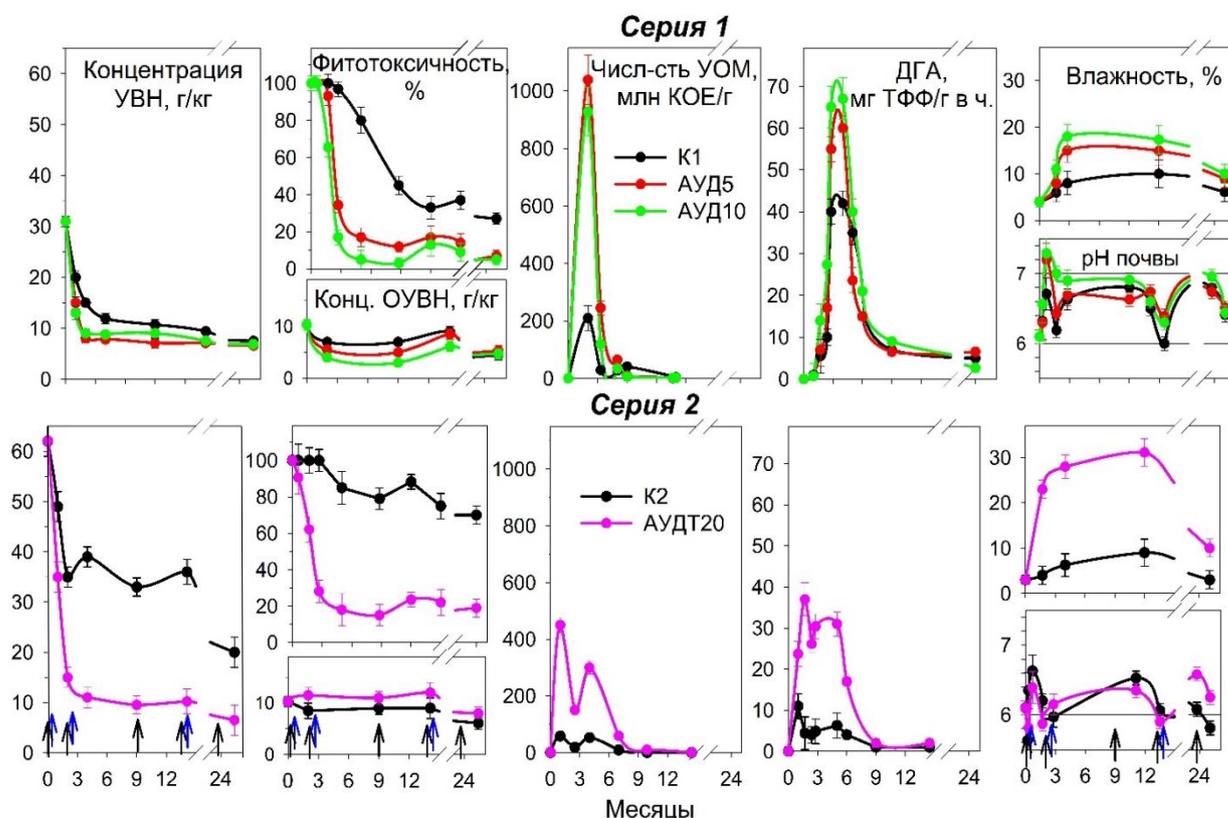


Рис. 16 Влияние смешанного сорбента АУД (в дозах 5 и 10%) на характеристики подзола иллювиально-железистого, загрязненного 6% нефти (*Серия 1*), а также композитного сорбента АУДТ (в дозе 20%) на характеристики подзола, загрязненного 12% нефти (*Серия 2*) в микрополевом эксперименте.

В первые 3 месяца *содержание УВН* в контроле *К2* снизилось с 62 ± 3 до 35–40 г/кг, после чего разложение углеводов резко замедлилось и к концу 3-го сезона их концентрация снизилась лишь до $22,2 \pm 3,8$ г/кг, а в присутствии АУДТ – до $7,2 \pm 2,5$ г/кг. В загрязненной почве перед началом обработки обнаруживали сравнительно высокие уровни ОУВН ($10,2 \pm 0,9$ г/кг), концентрация которых медленно снижалась в течение всего периода, и к концу наблюдений во всех образцах содержание ОУВН варьировало в пределах 7,8–9,2

г/кг, а разница между опытом и контролем почти во все сроки была статистически ($p < 0,05$) недостоверной.

В первый месяц обработки в обоих вариантах произошло резкое снижение **рН почвы** – с 6,7 до рН 5,6–5,8, но после дополнительного внесения АЗФ вместе с доломитовой мукой (через 3 и 13 мес.) рН почвы оставался на уровне 6,0–6,8. Для поддержания рН, близкого к нейтральному, в контрольную почву с 12% нефти было внесено в общей сложности ДМ в дозе 0,62 г/кг, а в варианты с АУДТ – 0,82 г/кг. Таким образом, благодаря присутствию ГАУ в композитном сорбенте АУДТ потребовалось внесение существенно меньшего количества ДМ, чем в вариантах **Серии 1** с аналогичной дозой одного торфа (рис. 16).

Несмотря на поддержание близкого к нейтральному рН почв, **фитотоксичность почвы** в контроле **К2** в течение всего времени наблюдений оставалась очень высокой (>75%), тогда как в присутствии АУДТ уже через 2–3 мес. эта величина снизилась до слаботоксичного уровня – $19 \pm 5\%$, и далее в течение всего эксперимента оставалась на низком уровне – от 18 до 22%. Кроме того, в присутствии АУДТ наблюдалось резкое повышение численности нефтедеструкторов (до 443 ± 39 по сравнению с 59 ± 7 КОЕ/г в контроле **К2**), а также значительное повышение максимума ДГА (до 37 ± 5 по сравнению с 12 ± 5 мг ТФФ/г в ч. в контроле **К2**). В нефтезагрязненной почве с добавками АУДТ в течение всего времени наблюдений поддерживалась более благоприятная для микрофлоры полевая влажность (20–32%), тогда как в контроле **К2** она оставалась очень низкой (3–10%) вплоть до конца эксперимента, что указывает на высокую гидрофобность контрольной почвы.

Для оценки **интегральной токсичности почвы** в середине 2-го и 3-го сезонов (через 11 и 23 мес. обработки соответственно) помимо остаточного содержания УВН и рН почвы определяли также ее фитотоксичность сертифицированным методом по длине корней проростков пшеницы (*Triticum vulgare*), а также ее биотоксичность по смертности *Daphnia magna* в остром и хроническом опыте. Результаты приведены на рис. 17.

При умеренном загрязнении почвы, в середине 2-го сезона, растения, высеянные в почву необработанного контроля (**НК**), полностью погибали. В этом же сезоне фитотоксичность контрольной почвы в **К1** достигала еще $77 \pm 4\%$, а в 3-м сезоне (через 23 мес.) – оставалась еще повышенной – $27 \pm 4\%$, тогда как фитотоксичность сильно загрязненной почвы **К2** была особенно высокой: 94 ± 5 и $66 \pm 7\%$ соответственно. При этом, уже во 2-м сезоне фитотоксичность почвы с некоторыми сорбентами резко снизилась: в почвах серии 1 - с добавками вермикулита и углеродистых сорбентов (особенно в присутствии АУД – до 14–15%), а в почвах Серии 2 – в присутствии АУДТ2 в дозе 20%. Несколько иная картина наблюдалась в почвах со Спилсорбом: во 2-м сезоне их

фитотоксичность достигала максимума, что коррелировало с сильным подкислением почвы, но к 3-му сезону, благодаря дополнительному известкованию, фитотоксичность этих вариантов снизилась почти до минимума (Михедова и др., 2022; Mikhedova, Uzorina, 2021).

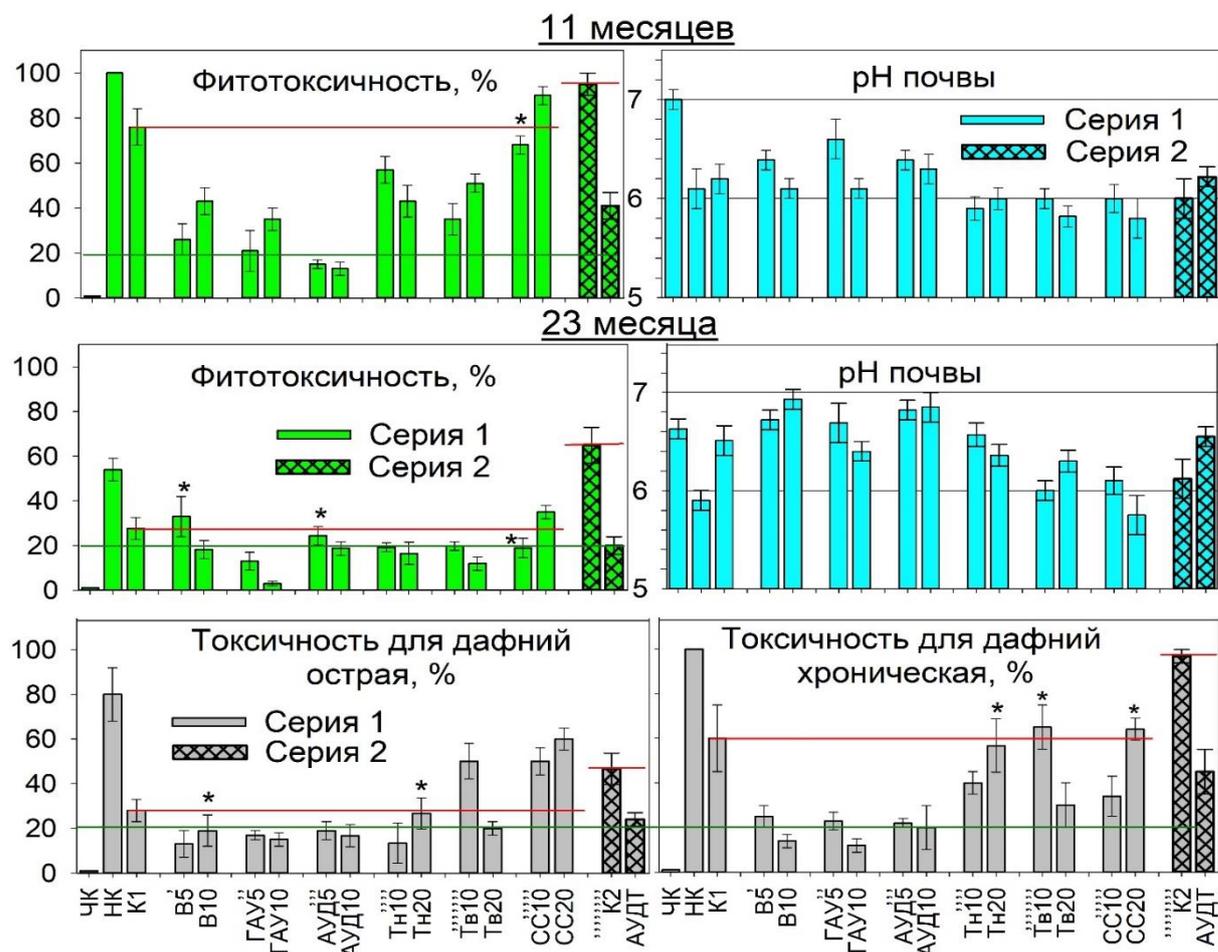


Рис. 17 Влияние двух доз сорбентов на pH почвы и интегральную токсичность подзола иллювиально-железистого, загрязненного 6 и 12% нефти, через 11 и 23 мес. обработки методом сорбционной биоремедиации в условиях микрполевого эксперимента. Интегральную токсичность определяли по фитотоксичности почв, оцениваемой по длине корней проростков пшеницы (*Triticum vulgare*), а также по биотоксичности в остром и хроническом биотесте с *Daphnia magna*. Звездочками отмечены варианты, в которых разница между опытной и контрольной почвами была недостоверной ($p < 0,05$).

Выводы. В ходе микрполевого эксперимента были установлены оптимальные условия для проведения сорбционной биоремедиации в условиях *in situ* для очистки нефтезагрязненной песчаной почвы подзол иллювиально-железистый, отобранной вблизи Самотлорского нефтяного месторождения (г. Нижневартовск, ХМАО).

Для образцов *Серии 1*, умеренно загрязненных сырой нефтью (6% нефти), все изученные натуральные сорбенты трех классов несколько ускорили разложение УВН в почве в первые 3–4 месяца, но к середине 3-го сезона остаточное содержание

углеводородов во всех почвах, включая контроль снизилось до уровня 5,5–7,0 г/кг и статистически не отличалось от контрольной почвы **K1**, обрабатываемой одним биопрепаратом. Тем не менее, к этому времени контрольная почва проявляла еще повышенную фито- и биотоксичность, особенно при хроническом тестировании по показателям размножения гидробионтов *Daphnia magna* в водно-почвенной вытяжке.

В то же время проведение биоремедиации на фоне внесения вермикулита и углеродистых сорбентов, особенно в присутствии АУД в дозах 2 и 5%, обеспечило снижение фито- и биотоксичности почвы до минимального уровня уже к концу 1-го или 2-го сезонов в зависимости от теста. Использование органических сорбентов было менее эффективным, так как оно сопровождалось значительным подкислением почвы (Васильева и др., 2015). Механизм положительного действия сорбентов, по-видимому, основан на снижении доступности токсичных соединений биоте за счет сорбции в их поровом пространстве (Васильева и др., 2015). В то же время, повышенная токсичность почв с добавками органических сорбентов объясняется подкислением почв до уровня ниже критического, а также за счет ослабления сорбции окисленных производных при понижении рН почвы. Хотя кислотность почвы можно регулировать путем известкования, однако для поддержания рН почвы, близкого к нейтральному, требуется регулярно контролировать ее рН и проводить известкование, что сильно осложняет процесс обработки почвы.

Образцы **Серии 2**, сильно загрязненные нефтью (12%) проявляли еще более высокую фито- и биотоксичность. Однако внесение композитного сорбента АУДТ в дозе примерно 2:1 по отношению к уровню загрязнения нефтью обеспечило резкое снижение фито- и биотоксичности почвы, а также ее гидрофобности. Это обеспечило поддержание более высокой полевой влажности почвы в ходе всего процесса очистки. Кроме того, совместное присутствие торфа и активированного угля в составе композитного сорбента снижало вероятность подкисления почвы за счет присутствия в ГАУ зольных элементов Са и Mg. Все эти факторы создали благоприятные условия для активации микроорганизмов-деструкторов и привели к существенному ускорению процесса биодegradации углеводородов и их метаболитов, а также к уменьшению биодоступности образующихся токсичных метаболитов. Конечная концентрация УВН в варианте с АУДТ была существенно ниже, чем в контроле **K2**: 7,2±2,5 и 10,2±0,9 г/кг соответственно. Следует, однако, учитывать, что пониженные максимумы численности УОМ и дегидрогеназной активности в почвах **Серии 2** по сравнению с почвами **Серии 1** согласуются с некоторым повышением биотоксичности в хроническом опыте с Дафниями в варианте АУДТ, что

указывает на присутствие некоторых остаточных количеств доступных токсичных метаболитов в этой почве.

3.2.2. Вегетационный эксперимент №2

Для уточнения наиболее оптимальных доз сорбентов при сорбционной биоремедиации умеренно загрязненной сырой нефтью подзола иллювиально-железистого (далее «подзол»), параллельно с микрополевым экспериментом был заложен вегетационный эксперимент №2 с более широким набором сорбентов и доз. Результаты представлены на рис. 18.

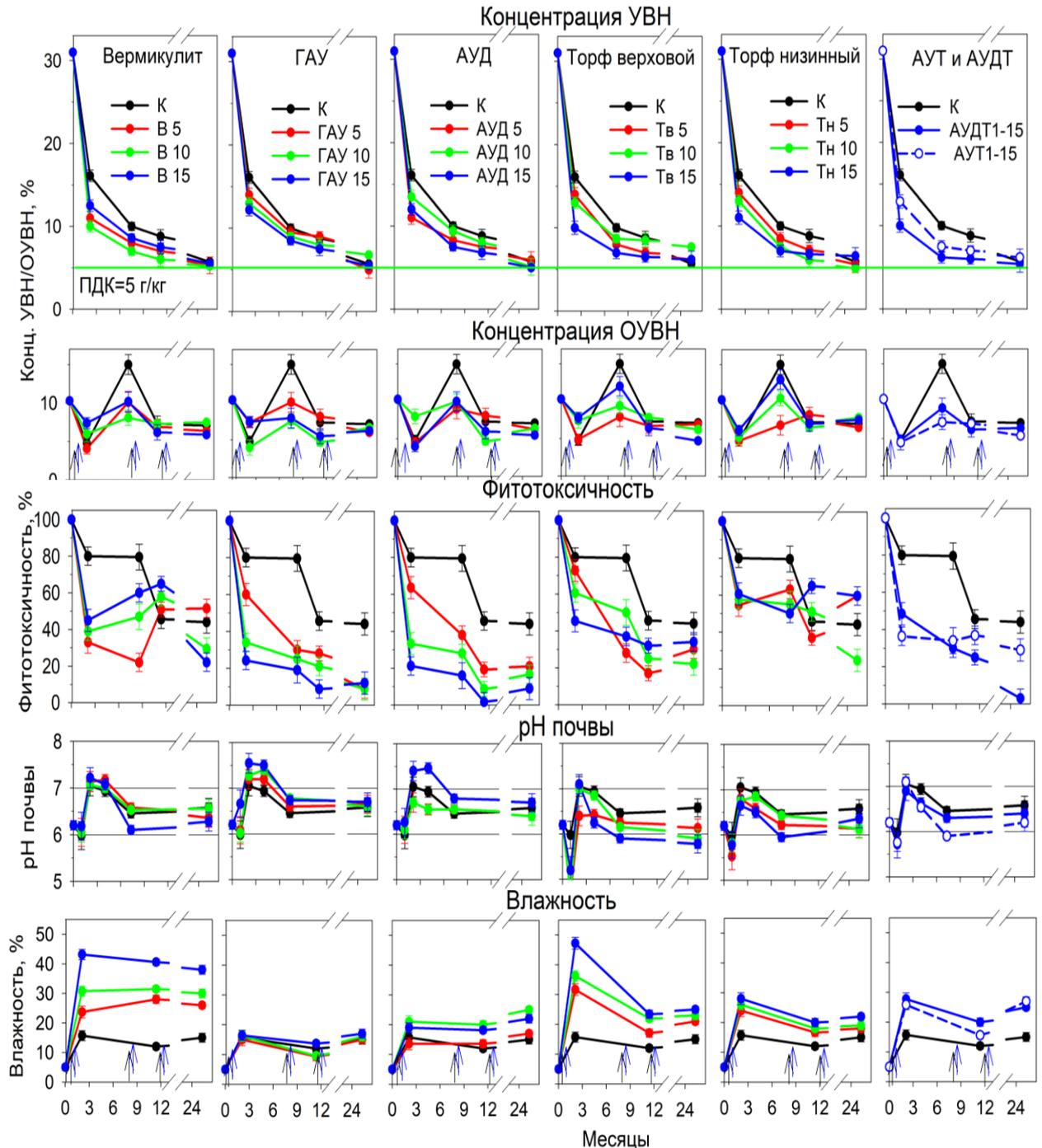


Рис. 18 Влияние трех доз (5, 10 и 15%) вермикулита, ГАУ, АУД, торфа верхового, а также 15% композитных сорбентов АУТ и АУДТ на динамику изменения разных характеристик подзола, загрязненного 6% сырой нефти, в сравнении с контролем без сорбентов (К) в ходе биоремедиации *в условиях вегетационного эксперимента №2*. Измерялись: концентрация

УВН и ОУВН, фитотоксичность, оцененная экспресс-методом, водный pH почв и ее влажность. Шифры образцов как в Таблице 6.

На графике показаны динамики изменения свойств подзола, загрязненного тремя дозами (5, 10 и 15%) сорбентов (вермикулит, ГАУ, АУД, торф низинный и торф верховой), а также одной дозы (15%) двух композитных сорбентов АУТ и АУДТ (Рис. 18). В данном эксперименте получены результаты, сходные с предыдущим экспериментом в микрополевых условиях. Однако, при выдерживании сосудов в условиях оранжереи (при температуре 20–30°C) *снижение концентрации УВН* протекало несколько быстрее, чем в микрополевых условиях, и через 27 мес. остаточные содержания УВН во всех образцах приблизились к уровню ПДК1 для минеральных почв ХМАО сельскохозяйственного назначения, равному 5 г/кг.

С другой стороны, в этом эксперименте в период с 4 до 8 мес. в почвах с сорбентами накапливались незначительные *концентрации ОУВН* по сравнению с контрольной почвой. Более высокое накопление ОУВН в контрольной почве **К** вегетационного эксперимента по сравнению с **К1** в микрополевых условиях можно объяснить вымыванием этих токсичных водорастворимых метаболитов в более глубокие слои почвы, тогда как в вегетационном эксперименте их миграция была исключена. Это предположение согласуется с более высокой *фитотоксичностью* контрольной почвы **К** по сравнению с этой величиной в микрополевом эксперименте **К1**: до 9 мес. обработки фитотоксичность почвы **К** оставалась на уровне 80±5%, а через 27 мес. она снизилась лишь до 45%.

В то же время фитотоксичность почв со всеми сорбентами резко снизилась и почти во все сроки поддерживалась на значительно более низком уровне, чем в контроле. Минимальный уровень фитотоксичности (<20%) поддерживался в почвах с 10 и 15% ГАУ и АУД, а с 15% АУДТ этот показатель снизился до минимума к концу наблюдений. В то же время в почвах с вермикулитом и торфом (особенно с торфом низинным), фитотоксичность почв оставалась повышенной и колебалась в пределах 25–70%.

Полученные результаты согласуются с колебанием кислотности почв. Благодаря внесению оптимальной дозы доломитовой муки в контроле **К** и в присутствии вермикулита *pH почвы* оставался в пределах 6,0–7,3. В присутствии углеродистых сорбентов pH возрастал до 7,2–7,6 пропорционально дозе сорбентов, а затем, после небольшого снижения, оставался близким к нейтральному. И наоборот, в присутствии торфа pH почвы в первоначальный период снижался до pH 5,0–5,4 и далее оставался ниже контрольного уровня, но в варианте с 15% торфа этот показатель вновь снижался до pH <6,0. С другой стороны, внесение композитных сорбентов на основе торфа и ГАУ, особенно АУДТ,

обеспечивало поддержание оптимального рН на уровне между рН 6,0–7,0, что предотвращало резкие колебания рН почвы и положительно влияло на снижение ее фитотоксичности. Более сильное подкисление почвы с 15% АУТ коррелирует с более высокой фитотоксичностью этой почвы.

В образцах с сорбентами, за исключением ГАУ, в течение всего времени наблюдений поддерживалась более высокая *влажность почв* по сравнению с контролем. В присутствии АУД влажность почвы превышала контрольный уровень на 5–10_{абс.}%, максимальное превышение влажности (на 20–40_{абс.}%) наблюдалось в образцах с вермикулитом и торфом верховым, а торф низинный и композитные сорбенты (АУТ и АУДТ) занимали промежуточное положение по влиянию на влажность нефтезагрязненной почвы.

Выводы. Хотя в первые месяцы обработки, все изученные сорбенты оказывают в основном положительное действие на скорость биоремедиации подзола иллювиально-железистого, загрязненного 6% нефти, однако к концу наблюдений разница между вариантами была статистически незначимой. Гораздо более сильное влияние оказали сорбенты на другие параметры. В присутствии большинства сорбентов накапливалось значительно меньшие концентрации ОУВН, чем в контроле, что очевидно, объясняет повышенную токсичность контрольной почвы *K* в течение всего периода наблюдений. Другой причиной повышенной фитотоксичности почв является подкисление почв ниже критического уровня рН 6,0 в образцах с торфом. В то же время в присутствии композитных сорбентов, особенно АУДТ, сильного подкисления почв не происходило благодаря нейтрализации избыточной кислоты под действием зольных элементов Са и Mg, присутствующих в ГАУ. Наряду с этим, в присутствии композитного сорбента АУДТ поддерживается более высокий уровень влажности почвы. Таким образом, можно прийти к выводу, что в ходе биоремедиации подзола иллювиально-железистого, загрязненного 6% нефти, наиболее оптимальные условия для активации микроорганизмов-нефтедеструкторов создаются при дополнительном внесении 15% композитного сорбента АУДТ. В присутствии этого сорбента снижается токсичность почвы и ее гидрофобность, что обеспечивает оптимальную влажность почвы, а также поддерживается рН почвы, близкий к нейтральному, что обеспечивает условия для ускоренного разложения УВН с минимальным накоплением токсичных метаболитов и наилучшего роста растений, а также снижает вероятность загрязнения грунтовых вод за счет меньшего накопления токсичных подвижных промежуточных продуктов окисления углеводов.

3.2.3. Вегетационный эксперимент №3

Результаты эксперимента показаны на рис. 19-21. Сравнение результатов вегетационных экспериментов №2 и №3 показало, что при обработке почв, загрязненных 11 и 13% нефти, путем аугментации с помощью БП Микробак (контрольные образцы *K1* и *K2*) разложение углеводородов нефти протекает медленнее, чем в умеренно загрязненной почве (6% нефти), и через 24 мес. содержание УВН в образцах *K1* и *K2* снизилось с 64 до $12,0 \pm 1,1$ и с 75 до $17,0 \pm 0,9$ г/кг, т.е. на 81 и 64%, соответственно, тогда как при исходном загрязнении 6% нефти за этот же период разлагалось 79–85% УВН.

В то же время внесение всех сорбентов (АУД, Торф верховой, АУДТ и АУДТ) в дозах от 10 до 20% значительно ускорило разложение УВН в обеих сильно загрязненных почвах, а разница между опытными и контрольными образцами без сорбентов оставалась значимой до конца наблюдений. В почве Н1 по возрастанию положительного влияния сорбентов на скорость разложения УВН в первые 9 месяцев сорбенты располагались в ряд $Tв < АУД < АУДТ < АУДТ$.

При этом разница между вариантами с двумя дозами сорбентов (10 и 15%) в большинстве случаев была статистически ($p > 0,05$) незначимой. В этой почве в присутствии 20% АУДТ концентрация УВН снизилась до ПДК1 принятого в ХМАО для почв лесохозяйственного назначения (15 г/кг), а через 12-24 мес. в присутствии обоих сорбентов АУДТ и АУДТ – снизилась до ПДК для почв сельскохозяйственного назначения (5 г/кг). В почве Н2 концентрация УВН снизилась до этих же уровней в присутствии 20% АУДТ и 15% АУДТ – через 10 и 24 мес. соответственно.

К концу наблюдений (через 24 мес.) в присутствии всех сорбентов в почве Н1 остаточные концентрации УВН колебались в пределах 7,5–10,6 г/кг, а наиболее полное разложение УВН (до $4,9 \pm 0,6$ г/кг, т.е. ниже ПДК1) наблюдалось в почве с 20% композитного сорбента АУДТ. Внесение того же композитного сорбента при биоремедиации почвы Н2 обеспечило снижение концентрации УВН до $6,6 \pm 0,5$ г/кг.

Кроме того, в присутствии всех сорбентов накапливалось значительно меньшее количество ОУВН по сравнению с контрольными почвами *K1* и *K2*, что привело к снижению фитотоксичности почв в присутствии АУД и особенно АУДТ до слаботоксичного уровня (<20%) через 6 и 9 мес. (в зависимости от дозы), а в почве Н2 – через 15 мес. В то же время, в почвах *K1* и, еще более в *K2*, фитотоксичность почв оставалась высокой до конца наблюдений: 39 ± 4 и $71 \pm 5\%$ соответственно.

Причем, в почвах с добавками торфа эта величина оставалась почти такой же высокой, как и в контроле *K1*. Очевидно, это связано с существенным подкислением почвы в присутствии 10 и 15% торфа: до pH 5,7 и 5,3 соответственно.

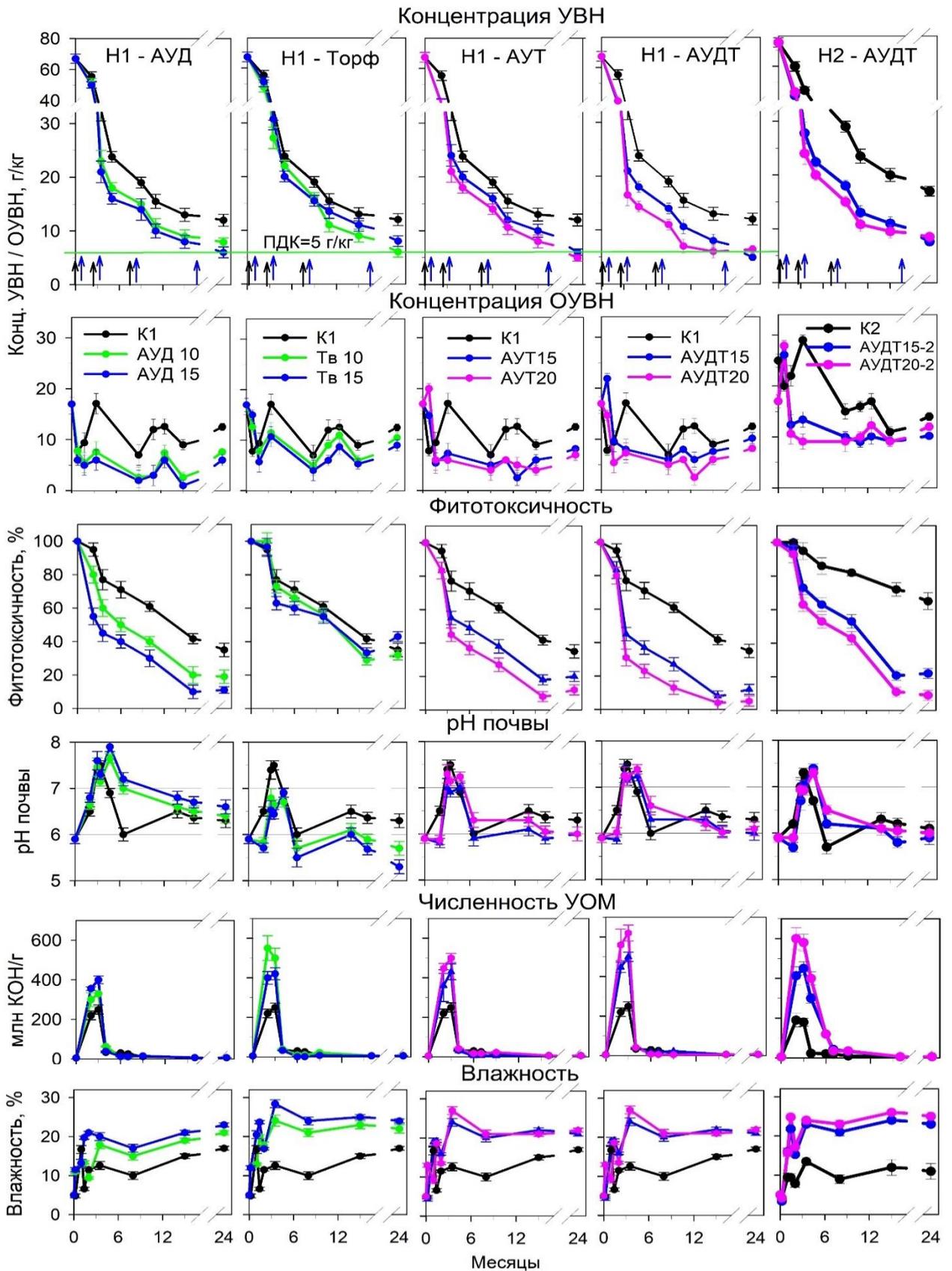


Рис. 19 Влияние двух доз (10 и 15%) АУД и торфа верхового, а также двух доз композитных сорбентов, соответственно (15 и 20% АУДТ) на динамику изменения характеристик подзола, загрязненного 11 и 13% сырой нефти (Н1 и Н2 соответственно), в ходе сорбционной биоремедиации в условиях *вегетационного эксперимента №3*. Шифры те же, что и в Таблице 7.

Во всех почвах разложение УВН в первые месяцы обработки сопровождалось резким повышением численности УОМ. В почвах *K1* и *K2* их максимумы достигали, соответственно, 260 и 200 млн КОЕ/г, тогда как в вариантах с сорбентами максимальная численность УОМ была в 2–3 раза выше. В почве Н1, в присутствии АУД численность УОМ повышалась до 350–400, в присутствии торфа – до 420–550, а в присутствии АУДТ – до 470–620 млн КОЕ/г в зависимости от дозы сорбента. В почве Н2 на фоне внесения АУДТ максимальная численность УОМ достигала 450–606 млн КОЕ/г.

Величины интегральной токсичности почв, оцененные по показателям роста растений, подтвердили сделанные выводы. На рис. 20 приведены результаты оценки фитотоксичности на основе измерения фитомассы проростков пшеницы, посеянной через 3,3 мес. и сухой массы газонных трав, посеянных через 17 мес. На рис. 21 показаны фотографии сосудов со всходами и трав, вынутых из сосудов через 1 мес. после высева.

Исследования показали, что посеянные через 3 мес. семена пшеницы почти полностью погибали во всех контрольных почвах, а в присутствии обеих доз торфа и 15% АУДТ – сильно ингибировались, однако в присутствии 20% АУДТ фитотоксичность почвы с 11% нефти снизилась до минимума (<20%), в почве с 13% нефти – до 40±4%.

Таким образом, через 17 мес. фитотоксичность контрольных почв, оцененная по фитомассе растений, оставалась еще очень высокой, тогда как в остальных образцах она существенно снизилась, в этот период, наибольший эффект 20% АУДТ.

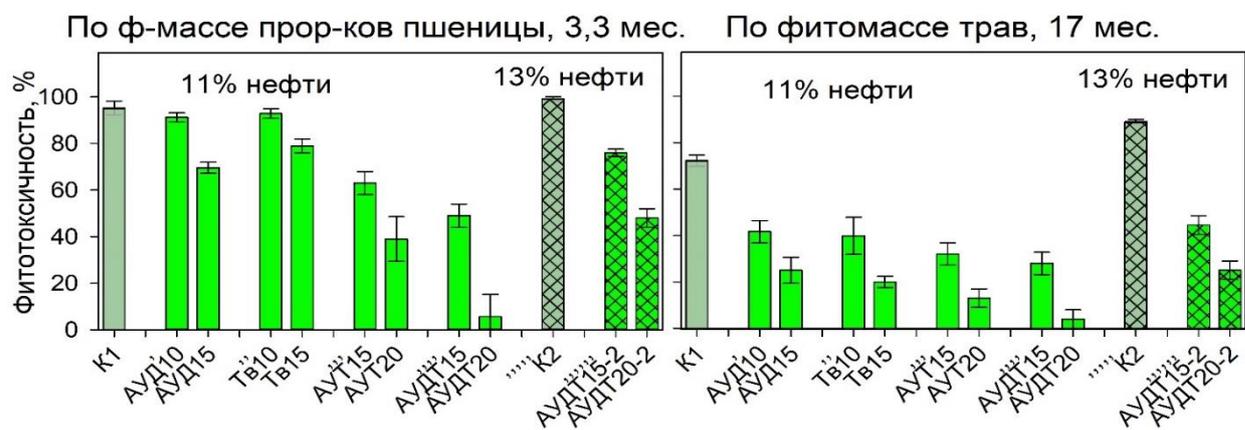


Рис. 20 Влияние двух доз (10 и 15%) АУД и торфа верхового, а также двух доз (15 и 20%) композитных сорбентов АУТ и АУДТ на фитотоксичность подзола, загрязненного нефтью в дозе 11 и 13%, оцененной по длине корней проростков пшеницы (*Triticum vulgare*), посеянной через 3,3 мес., и по фитомассе 1-месячных трав, посеянных через 17 мес. после начала вегетационного эксперимента №3.

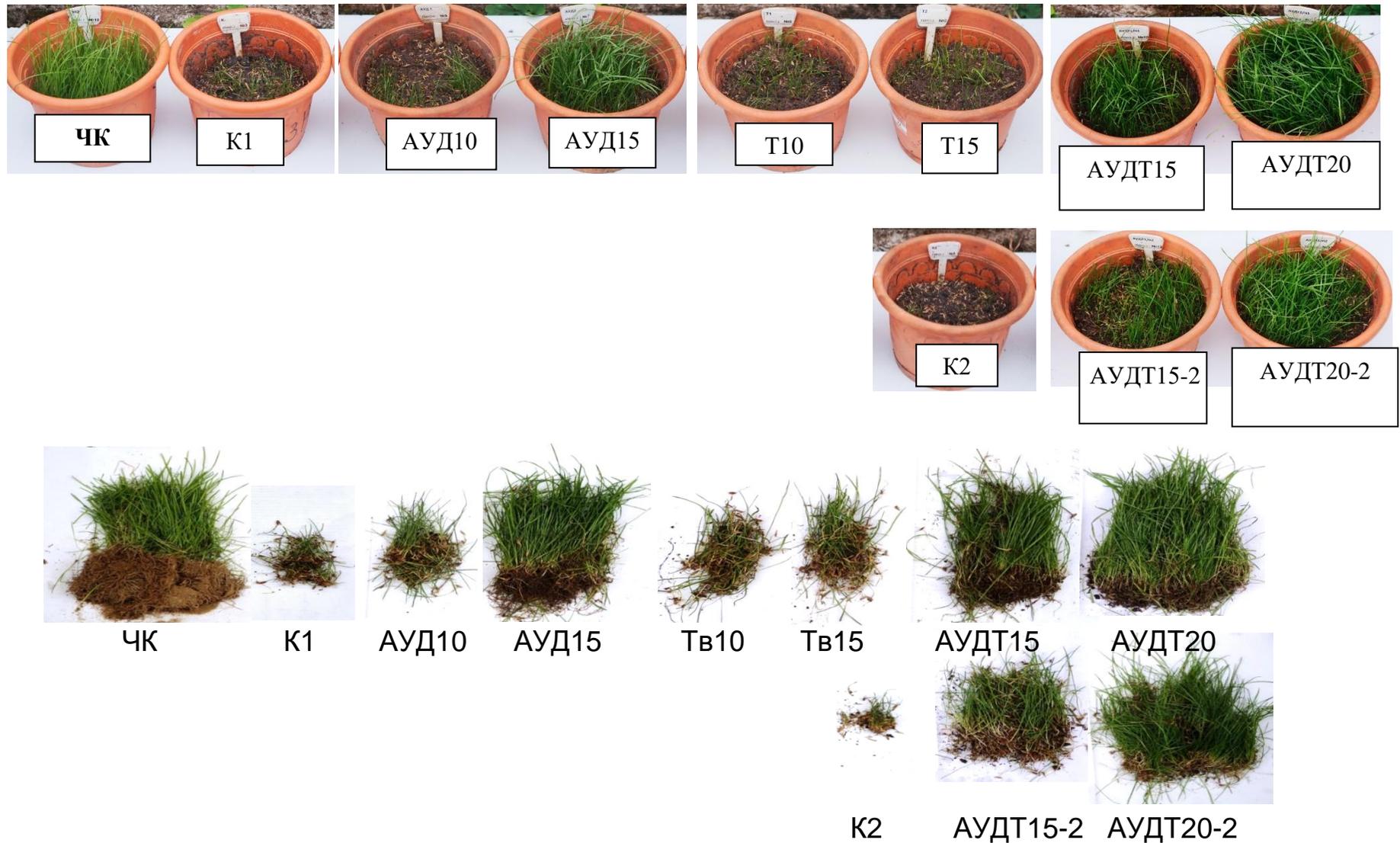


Рис. 21 Вид сосудов с 1-месячными ростками газонных трав, высеянными через 17 мес. после начала вегетационного эксперимента №3 по изучению влияния двух доз (10 и 15%) АУД и торфа, а также двух доз (15 и 20%) композитного сорбента АУДТ на скорость биоремедиации подзола, загрязненного 11 и 13% нефти: верхний и нижний ряды соответственно.

Выводы. При проведении биоремедиации подзола иллювиально-железистого, загрязненного нефтью на уровне 11-13%, внесение одного биопрепарата не дало желаемого результата. Даже через 2 года инкубирования в условиях, близких к оптимальным по гидротермическим и физико-химическим условиям, а также при достаточной обеспеченности биофильными элементами, остаточные концентрации УВН в почве сохранялись на уровне от 12 до 18 г/кг, и кроме того в почве накапливалось еще примерно такое же количество окисленных производных углеводородов – ОУВН. С другой стороны, проведение биоремедиации на фоне внесения АУД, торфа и АУДТ в дозах 15 или 20% обеспечило ускоренное разложение УВН, которое сопровождалось значительно меньшим чем в контроле накоплением ОУВН.

Механизм действия композитных сорбентов объясняется снижением доступности токсичных компонентов нефти и их метаболитов вследствие обратимой сорбции этих токсикантов, а также за счет поддержания более высокой полевой влажности почвы, что сопровождается повышенной численностью микроорганизмов-нефтедеструкторов по сравнению с контролем. Эффект от внесения торфа слабее, чем от внесения АУД, что объясняется закислением почвы до $\text{pH} < 6,0$ за счет разложения самого торфа, тогда как внесение АУД, наоборот, обеспечивает некоторое повышение pH почвы за счет присутствия в активированном угле зольных элементов. Внесение композитного сорбента на основе их смеси сорбентов дает наибольший положительный эффект, так как этот сорбент проявляет свойства, присущие индивидуальным сорбентам. В том числе, входящий в состав композитных сорбентов активированный уголь снижает токсичность почвы за счет сорбции токсикантов и поддержания оптимального уровня pH почвы, тогда как торф способствует поддержанию оптимальной полевой влажности почвы. В результате проведения сорбционной биоремедиации подзола на фоне внесения композитного сорбента АУДТ через 2 года обработки произошло снижение концентрации УВН до локального уровня ПДК (15 г/кг), установленного для рекультивированных почв (легкие дерново-подзолистые и подзолы, песок или супесь), предназначенных для лесохозяйственного назначения на территории ХМАО (Постановление..., 2016), а интегральная токсичность почв, оцененная по показателям роста посеянных газонных трав, снизилась до минимума. В то же время в контрольных почвах остаточные количества УВН оставались еще высокими, а почва проявляла высокую фитотоксичность.

3.3. Апробация и экологическая оценка эффективности разработанного метода сорбционной биоремедиации минеральных почв Западной Сибири в полевых условиях

На рис. 22 приведены фотографии закладки и проведения эксперимента с литостратом песчаным при апробации разработанного метода на территории ЛПДС «Западный Сургут», принадлежащей компании «Транснефть», в полевых условиях, приближенных к естественным. Показан вид экспериментальных сосудов в период закладки эксперимента после загрязнения нефтью и внесения добавок – 10–13 июня 2021 г., а также 30 сентября 2021 г. – через 3 недели после посева луговых трав. соответственно, растения удаляли, отмывали от грунта, высушивали при 40°C до постоянного веса и определяли их биомассу.

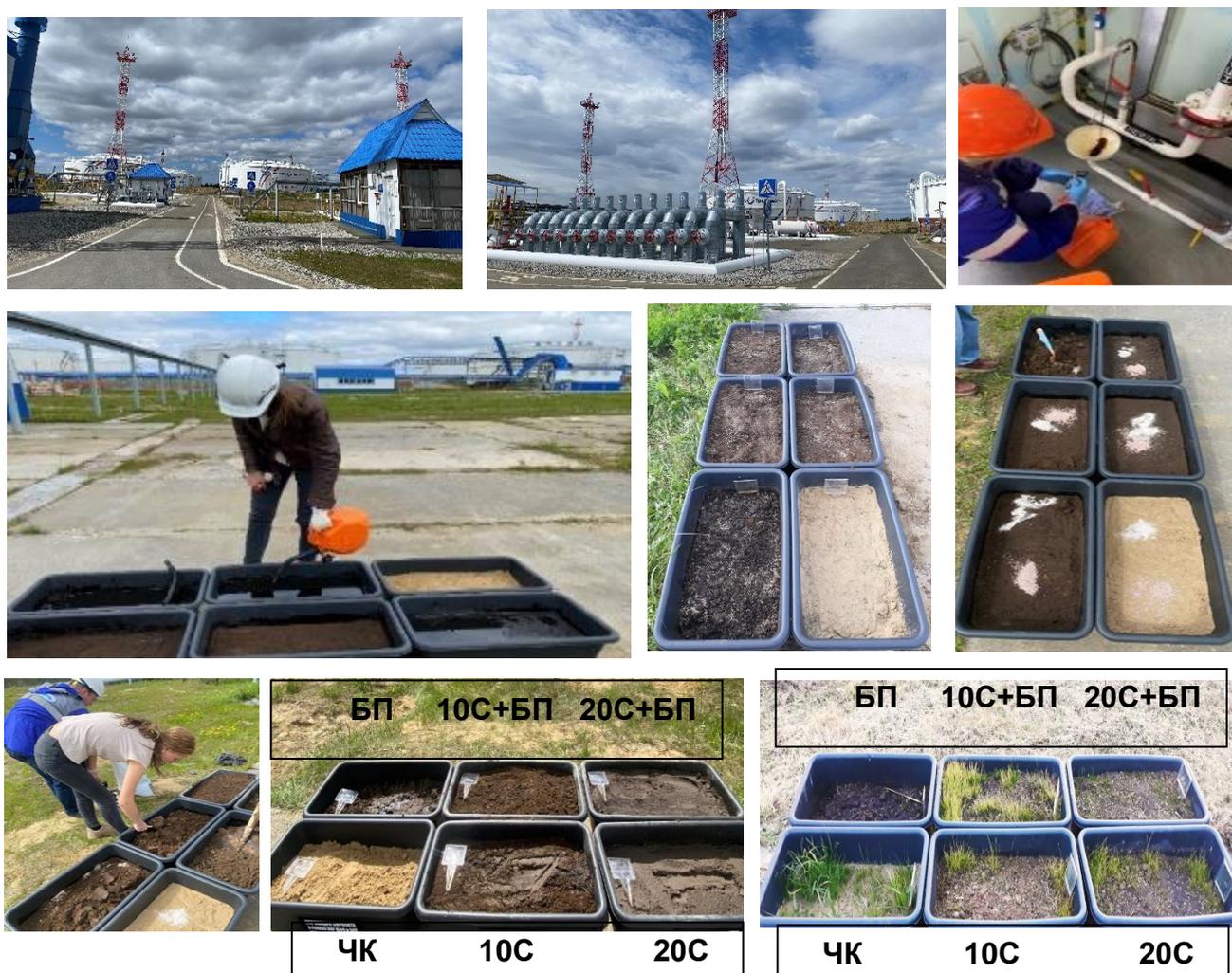


Рис. 22 Закладка и проведение эксперимента по сорбционной биоремедиации литострата песчаного, загрязненного 15% нефти на экспериментальной площадке ЛПДС «Западный Сургут» (компании «Транснефть»), а также вид сосудов в начале эксперимента 10 июня и 30 сентября 2021 г., т.е. через 3,7 мес. обработки и через месяц после посева газонных трав.

На рис. 23 показаны динамики изменения различных свойств очищаемого от нефти литострата песчаного, которые в первые 3,7 месяца определяли в образцах, отобранных из

сосудов, установленных на экспериментальной площадке ЛПДС, а в последующие месяцы почву для анализа отбирали из сосудов с привезенной почвой в ходе вегетационного эксперимента, проводимого в лабораторных условиях.

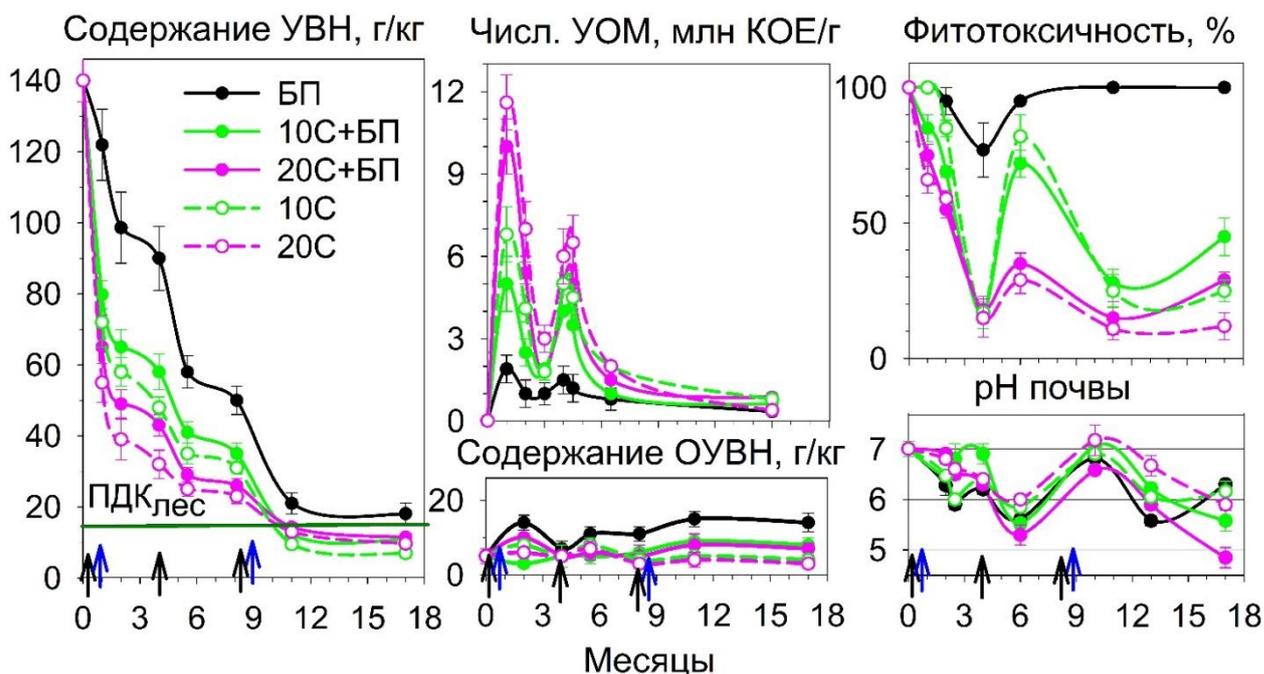


Рис. 23 Влияние биопрепарата «Микробак» и двух доз композитного сорбента АУДТ (далее С), внесенных отдельно (соответственно БП, 10С и 20С) и в комбинации (10С+БП и 20С+БП), на динамику изменения содержания УВН и ОУВН в *литострате песчаном*, а также численности углеводород-окисляющих микроорганизмов, рНв почвы и ее фитотоксичности, оцененной по всхожести клевера белого (*Trifolium repens*), в ходе эксперимента на территории ЛПДС «Западный Сургут».

К концу первого сезона, т.е. через 4 мес., содержание УВН в контрольной почве с одним биопрепаратом (**БП**) снизилось со $140,0 \pm 4,2$ г/кг до $92,4 \pm 9,5$ г/кг. Концентрация УВН в почвах с добавками одного сорбента в дозах 10 и 20% (10С и 20С) снизилась до $49,0 \pm 4,7$ и $32,4 \pm 3,8$ г/кг, соответственно, а в вариантах с внесением сорбентов в комбинации с БП (10С+БП и 20С+БП) – до $58,6 \pm 3,4$ и $43,1 \pm 2,6$ г/кг, соответственно.

В последующем вегетационном эксперименте после дополнительного внесения АЗФ через 4 мес., а также АЗФ с ДМ – через 8 мес. разложение ускорялось. В результате, через 11 мес. после начала обработки, остаточная концентрация УВН в контроле **БП** достигала $19,8 \pm 3,4$ г/кг, а в большинстве экспериментальных образцов она колебалась в пределах от $8,5 \pm 1,2$ до $14,3 \pm 1,5$ г/кг, т.е. была статистически ($p > 0,05$) значимо ниже, чем в контроле. При этом концентрация УВН в опытных вариантах снизилась до уровня ниже ПДК (< 15 г/кг), установленного на территории ХМАО для рекультивированных почв (легкие дерново-подзолистые и подзолы, песок или супесь), предназначенных для лесохозяйственного использования (Постановление..., 2016).

По результатам полевого эксперимента, продолжавшегося с июня по сентябрь 2021 г., был составлен «Акт выполненных работ по апробации инновационного метода» за подписью гл. инженера Сургутского УМН АО «Транснефть-Сибирь Чайкин Е.А. и директора ИФХиБПП РАН, чл.-корр. РАН Алексеев О.А., подтверждающий эффективность разработанного метода уже в течение первого сезона (см. Приложение 1.1., 1.2.).

В последующие 6 мес. концентрация УВН изменялась незначительно. Причем их содержание в контроле **БП** оставалось выше, а в присутствии сорбентов – ниже ПДК. В вариантах с отдельным внесением обеих доз сорбентов (10С и 20С) наблюдалась тенденция более ускоренного разложения УВН, чем в соответствующих вариантах с одновременным внесением сорбента и БП (10С+БП и 20С+БП), хотя в большинстве сроков проведения анализов разница между этими вариантами для каждой дозы сорбента была недостоверной, особенно к концу эксперимента.

В ходе обработки разложение УВН сопровождалось накоплением значительного количества окисленных продуктов разложения – ОУВН. При этом, их содержание в контроле колебалось в пределах от 7,2 до 15,4 г/кг, а в присутствии обеих доз сорбента – в пределах от 3,9 до 8,9 г/кг, и почти во все сроки наблюдений содержание ОУВН в контроле (**БП**) значимо ($p > 0,05$) (в 1,9–3,7 раза) превышало эту величину во всех вариантах с сорбентом.

Одновременно с разложением УВН наблюдался всплеск численности УОМ, который возрастал с увеличением дозы сорбента. В контрольной почве с внесением одного БП их численность поднималась до $1,5 \pm 0,4$ млн КОЕ/г, в вариантах 10С и 10С+БП эта величина повышалась до $5,5 \pm 0,7$ и $3,0 \pm 0,2$ млн КОЕ/г, соответственно, а в вариантах 20С и 20С+БП – до $11,6 \pm 1,2$ и $10,2 \pm 1,4$ млн КОЕ/г. После дополнительного внесения АЗФ численность УОМ в этих почвах также возрастала, но в меньшей степени, чем в первые месяцы. При этом наблюдались примерно те же закономерности увеличения численности микроорганизмов в присутствии сорбентов, что и в начальный период обработки.

В ходе эксперимента также наблюдались изменения кислотности почв. В первые месяцы рН почв оставался в пределах от 6,0 до 7,0. Затем, в ходе вегетационного эксперимента после дополнительного внесения АЗФ во всех почвах рН снижался до 5,4–6,0. Дополнительное внесение АЗФ на фоне известкования (через 8 мес.) сопровождалось нейтрализацией кислотности до рН 6,5–7,1, однако затем произошло повторное снижение рН, особенно в присутствии максимальной дозы сорбента на фоне внесения БП, где рН почвы снижался до 4,9.

Несмотря на существенное снижение концентрации УВН в контрольной почве (на 88%), она оставалась высокотоксичной в ходе всего времени наблюдений. В присутствии

обеих доз сорбента фитотоксичность почвы резко снижалась уже в первые месяцы обработки, однако в присутствии меньшей дозы фитотоксичность временно возрастала до 70–75%, а потом вновь опускалась, но оставалась в пределах 25–41%. Более существенное снижение фитотоксичности наблюдалось в вариантах с максимальной дозой сорбента: через 11 мес. фитотоксичность почвы в варианте 20С снизилась до минимума (<20%), а в варианте 20С+БП она вновь несколько повышалась – до 35%. Некоторое повышение фитотоксичности почвы в присутствии повышенной дозы сорбента в конце наблюдений совпадало с повышением кислотности почвы в этом варианте до pH <4,9, что можно объяснить подкисление почвы за счет разложения торфа, входящего в состав сорбента.

Данные по изменению фитотоксичности почвы подтвердились результатами *определения интегральной токсичности почвы* по показателям роста растений и на основании острого и хронического теста на *Daphnia magna*. На рис. 24 и 25 дан вид сосудов в ходе фитотестирования по показателям роста газонных трав, посеянных в экспериментальные сосуды через 7,5 и 11,5 мес. обработки.

В контрольной почве, обработанной одним БП, растения полностью погибали, тогда как в образцах с максимальной дозой сорбента (20%) фитомасса посеянных трав в этих почвах превышала их фитомассу в чистом контроле. Однако, в присутствии 10% сорбента (с \БП и без) рост растений еще сильно ингибировался.



Рис. 24 Вид сосудов при проведении фитотеста с газонными травами, посеянными в почву из эксперимента с литостратом песчаным, загрязненным 15% нефти, через 9 мес. после начала биоремедиации с внесением БП и композитного сорбента АУДТ2 в двух дозах 10 и 20%: индивидуально (10С и 20С) и в комбинации с биопрепаратом (10С+БП и 20С+БП).

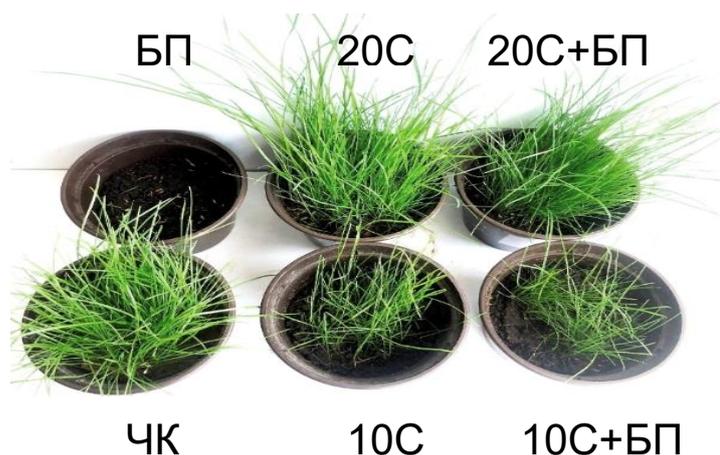


Рис. 25 Вид сосудов при проведении фитотеста с райграсом полевым (*Lolium perenne*), посеянными в почву из эксперимента с литостратом песчаным, загрязненным 15% нефти, через 12 мес. после начала биоремедиации с внесением БП композитного сорбента АУДТ в двух дозах 10 и 20%: индивидуально (10С и 20С) и в комбинации с биопрепаратом (10С+БП и 20С+БП).

С этими данными согласуются результаты определения **интегральной токсичности почвы** сертифицированным методом по показателям роста 2-х недельных проростков ячменя, которые приведены на рис. 26.

В контрольной почве **БП** даже через 15 и 22 мес. проростки ячменя почти полностью погибали. Через 15 мес., в почвах 10С и 10С+БП фитотоксичность почв, оцененная по длине стеблей и корней проростков *Hordeum vulgare* снизилась до 60–70%, в почве 20С+БП – до 40–55%, и лишь в почве варианта 20С она была очень низкой (3–5%). С другой стороны, через 22 мес. фитотоксичность всех образцов с 20%С (20С и 20С+БП) снизилась до минимума (<20%), а в присутствии 10%С – до 40–60%.

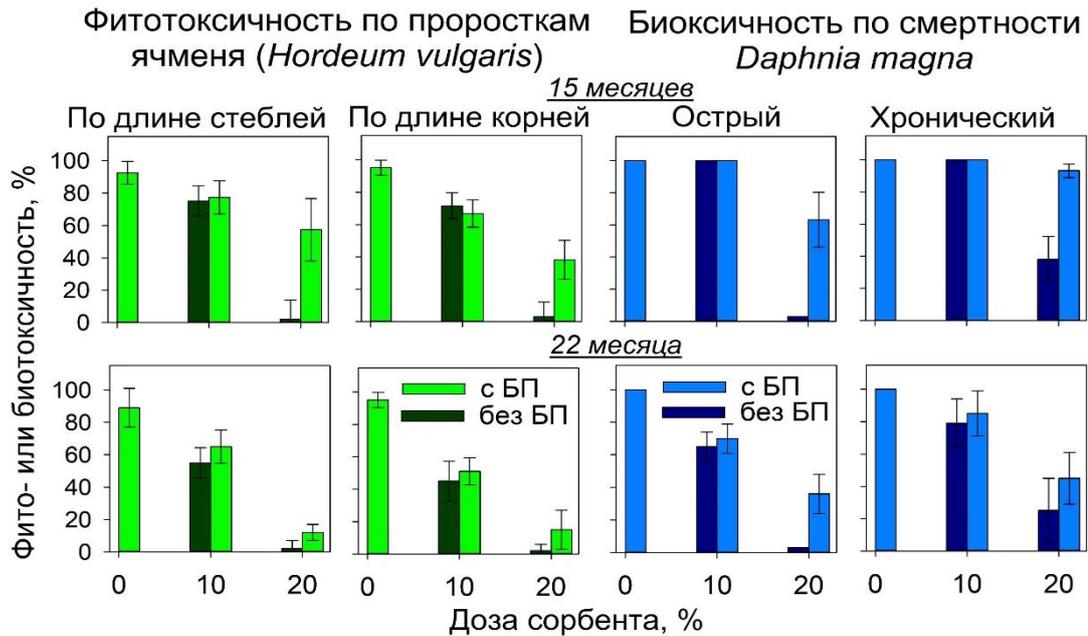


Рис. 26 Влияние биопрепарата (БП) и двух доз композитного сорбента АУДТ (10%С и 20%С), внесенных раздельно (без БП) и в комбинации с БП, на фитотоксичность литострата песчаного, загрязненного 15% нефти, оцененную по длине стебля и корня проростков ячменя (*Hordeum vulgare*) и ее биотоксичность, оцененную по смертности *Daphnia magna* в остром и хроническом опыте, через 15 и 22 мес. обработки.

Выводы. Результаты полевого эксперимента на территории ЛПДС «Западный Сургут» показали невозможность очистки литострата песчаного, сильно загрязненного нефтью (15%), методом биоаугментации с внесением одного биопрепарата на основе штаммов нефтедеструкторов. С другой стороны, применение метода сорбционной биоремедиации этой почвы с использованием композитного сорбента АУДТ в дозе 20%, может обеспечить снижение концентрации УВН до уровня ПДК (<15 г/кг), установленного в ХМАО для рекультивированных минеральных и смешанных почв лесохозяйственного назначения, за время около 2-х сезонов. К этому времени интегральная токсичность почвы с добавками 20% композитного сорбента снижается до минимума, о чем свидетельствует хороший рост трав, высеванных в эту почву, а также низкий уровень биотоксичности водно-почвенных экстрактов по отношению к гидробионтам *Daphnia magna*.

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе исследований были проведены несколько экспериментов.

- Вегетационный №1 с глеево-подзолистой почвой, загрязненной 7% нефти.
- Микрополевой с подзолом иллювиально-железистым, загрязненным 6 и 12% нефти.
- Вегетационный №2 с подзолом иллювиально-железистым, загрязненным 6% нефти.
- Вегетационный №3 с подзолом иллювиально-железистым, загрязненным 12% нефти.
- Апробация разработанного метода на экспериментальной площадке компании Транснефть в условиях, приближенных к естественным, с литостратом песчаным, загр. 15% нефти.

В каждом эксперименте была доказана низкая эффективность применения *классического метода биоремедиации* с помощью *биоаугментации* для очистки минеральных почв Западной Сибири от нефти при ее исходной концентрации от 5 до 15%. Установлены причины низкой эффективности использования этого метода для очистки изученных почв даже при умеренном уровне загрязнения – около 5%. Показано, что в ходе микробной деградации УВН в почве накапливаются значительные количества водорастворимых токсичных продуктов окисления углеводов, которые из-за низкой буферности минеральных почв и их пониженного рН остаются легкодоступными почвенной биоте и растениям и, как было показано ранее, могут легко мигрировать по почвенному профилю. Кроме того, в ходе биоремедиации, из-за внесения высоких доз минеральных удобрений с целью создания необходимого уровня биофильных элементов, возможно сильное подкисление почв до уровня ниже критического – $\text{pH} < 6$. Для предотвращения этого подкисления необходимо дробное внесение минеральных удобрений и дополнительное внесение извести в виде доломитовой муки. Кроме того, из-за высокой гидрофобности нефтезагрязненных почв происходит снижение их влагоемкости, а, следовательно, снижается уровень влажности почвы. Все эти факторы способствуют ухудшению условий для жизнедеятельности микроорганизмов-деструкторов и роста растений.

Для преодоления этих отрицательных эффектов предложено для очистки минеральных почв Западной Сибири, умеренно и сильно загрязненных нефтью (от 5 до 15%), использовать *метод сорбционной биоремедиации*, основанный на дополнительном внесении натуральных сорбентов, который ранее показал свою эффективность на серой лесной почве.

В ходе данных исследований, проведенных в лабораторных, микрополевых и полевых условиях, были подобраны оптимальные условия для проведения сорбционно-

биологической очистки минеральных почв, а также дана экологическая оценка возможности использования этого метода на примере трех типов минеральных почв, отобранных в нефтедобывающих регионах Западной Сибири. Для этого на первом и втором этапах было изучено влияние ряда натуральных сорбентов на скорость биоремедиации, а также на физико-химические и биологические свойства двух типов минеральных почв, специально загрязненных нефтью в дозах от 6 до 13%, а также изучена интегральная токсичность этих почв после очистки методом сорбционной биоремедиации. Затем на третьем заключительном этапе была проведена апробация разработанного метода на литострате песчаном в полевых условиях.

На первом этапе, в ходе вегетационного эксперимента №1 с глеево-подзолистой почвой, отобранной вблизи УНГКМ (г. Уренгой, ЯНАО), установлено положительное действие натуральных сорбентов на скорость биоремедиации этой почвы, умеренно загрязненной нефтью (6%), путем биоаугментации с использованием биопрепарата Микробак. Показано, что в первые 4 месяца наблюдается ускоренное разложение УВН в присутствии всех изученных сорбентов, однако через 11 мес. обработки остаточное содержание УВН во всех почвах снижается до минимума (4–8 г/кг), а разница между вариантами становится статистически ($p > 0,05$) незначимой. Тем не менее, контрольная почва без сорбентов проявляет повышенную фитотоксичность до конца наблюдений, тогда как в присутствии вермикулита и углеродистых сорбентов фитотоксичность почв снижается до минимума (<20%) уже в первые несколько месяцев. Кроме того, в этих почвах поддерживается рН почвы, близкий к нейтральному. С другой стороны, на фоне добавок органических сорбентов (торф верховой и низинный и Спилсорб) существенно повышается влажность почв, однако в этих вариантах наблюдается периодическое закисление почвы до уровня рН ниже критического, что отрицательно сказывается на активности нефтедеструкторов. Из всех исследованных сорбентов наилучшее влияние на все свойства почвы оказал **смешанный сорбент АУД** на основе ГАУ и диатомита (4:1). Его внесение в почву в количестве (0,4÷1):1 по отношению к суммарному содержанию углеводов и их окисленных производных создает благоприятные условия для активации инокулированных микроорганизмов-нефтедеструкторов за счет сорбции токсичных метаболитов и поддержания кислотности в оптимальном интервале рН. Этот вывод подтверждается существенным увеличением максимального уровня дегидрогеназной активности почвы с добавками АУД в период активного разложения углеводов.

На втором этапе для экспериментов использовали образец другой минеральной почвы – **подзол иллювиально-железистый**, отобранной вблизи Самотлорского нефтяного

месторождения (г. Нижневартовск, ХМАО), которая обладает сходными характеристиками с глеево-подзолистой почвой.

В микрополевом эксперименте (Серия 1) с подзолом иллювиально-железистым, умеренно загрязненным нефтью (6%), получено подтверждение сделанного вывода о положительной роли всех перспективных сорбентов, внесенных в оптимальных дозах, выявленных в ходе вегетационного эксперимента №1. Из изученных сорбентов наилучшее действие оказали те же сорбенты, что и в предыдущем опыте (вермикулит, ГАУ и, особенно, АУД), в присутствии которых наблюдалось наибольшее снижение фитотоксичности почвы, а также повышение дегидрогеназной активности и численности углеводород-окисляющих микроорганизмов. С другой стороны, положительное влияние добавок органических сорбентов проявилось в заметном увеличении влажности почв, которая в остальных образцах вследствие их гидрофобности была пониженной. При этом, внесение органических сорбентов (торф низинный, верховой, Спилсорб) сопровождалось периодическим подкислением почв до рН ниже 6,0 – вплоть до рН 5,0, что значительно повышало токсичность почв. Подкисление почв в присутствии органических сорбентов объясняется накоплением органических кислот вследствие разложения самих сорбентов в сопровождении более высоких доз удобрений. В конечном итоге, результаты микрополевого эксперимента с умеренно загрязненной почвой также подтвердили наибольшую эффективность *смешанного сорбента АУД*, внесенного в дозах 5 или 10%.

В условиях того же микрополевого эксперимента (Серия 2) с подзолом иллювиально-железистым, загрязненным двойной дозой нефти (12%), еще более сильное влияние на скорость биоремедиации оказало внесение *композитного сорбента АУДТ* в дозе 20%. Хотя в этой серии эксперимента были заложены только 2 варианта (контроль *К2* – с внесением БП и вариант АУДТ – с внесением БП в комбинации с сорбентом), тем не менее выбор этого сорбента оказался удачным. Композитный сорбент АУДТ представляет собой смесь АУД и торфа верхового в соотношении 1:1, и таким образом совмещает в себе положительные качества всех входящих в него компонентов. Внесение в сильно загрязненную почву композитного сорбента АУДТ в дозе 20% (т.е. примерно 2:1 по отношению к исходному суммарному уровню УВН и ОУВН) привело к резкому снижению ее фито- и биотоксичности, а также гидрофобности почвы, что обеспечило поддержание оптимальной полевой влажности почвы в ходе всего процесса очистки. Кроме того, совместное присутствие торфа и активированного угля в составе композитного сорбента снизило вероятность подкисления почвы за счет присутствия в ГАУ зольных элементов Са и Mg. Все эти факторы создали благоприятные условия для активации микроорганизмов-деструкторов благодаря чему произошло значительная стимуляция процесса

биодegradации УВН, а также их окисленных форм и соответственно снижение фито- и биодоступности образующихся токсичных метаболитов.

Доказательством накопления легкодоступных токсичных метаболитов углеводов в ходе биоремедиации нефтезагрязненных почв может служить высокая токсичность водно-почвенных экстрактов контрольных образцов без сорбентов по отношению к гидробионтам *Daphnia magna*, продемонстрированная в остром и, особенно, в хроническом опыте. В то же время, интегральная токсичность сильно загрязненной почвы с добавками АУДТ, оцененная по фито- и биотоксичности, резко снижалась. В присутствии АУДТ наблюдалось значительное повышение численности микроорганизмов-нефтедеструкторов и дегидрогеназной активности по сравнению с контролем **K2**, а остаточная концентрация УВН в варианте с АУДТ через 26 мес. инкубирования была значимо ($p > 0,05$) ниже, чем в контроле: $7,2 \pm 1,2$ и $10,2 \pm 0,9$ г/кг соответственно.

В ходе двух дополнительных вегетационных экспериментов №2 и №3 с подзолом иллювиально-железистым, загрязненным нефтью в дозах от 6 до 13%, с расширенным набором сорбентов и их доз, были сделаны уточнения о механизме влияния сорбентов и подобраны оптимальные условия для восстановления минеральных нефтезагрязненных северных почв на территории Западной Сибири. В вегетационных экспериментах была доказана наибольшая эффективность использования композитного сорбента АУДТ при биоремедиации как умеренно, так и сильно загрязненных почв, при этом результат от добавления сорбента, значительно возрастал с увеличением исходного уровня загрязнения почв нефтью. При этом, наиболее оптимальное соотношение дозы сорбента АУДТ к исходному суммарному уровню загрязнения почвы (УВН+ОУВН) находился в пределах $(1 \div 2):1$. Доказана также высокая эффективность использования композитного сорбента АУДТ на основе АУД и торфа верхового по сравнению АУТ, в котором отсутствует диатомит. В работе (Wang et al., 2012) показано, что в среде с нефтью рост нефтедеструкторов иммобилизованных на альгинате натрия в смеси с диатомитом, был значительно лучше, а разложение поллютанта выше, чем под действием клеток без диатомита (Зиннатшина, 2019). Положительная роль диатомита может быть связана с его способностью повышать устойчивость к стрессу растений и других организмов благодаря его способности повышать пористость почвы, а также выделять моно- и поликремниевые кислоты (Зиннатшина, 2019; Aksakal et al., 2012, Boyraz, Nalbant 2015; Dessalew et al., 2017; Crooks, Prentice, 2017).

На третьем этапе, при апробации разработанного метода на территории экспериментальной площадки ЛПДС «Западный Сургут» в условиях, приближенных к естественным в течение первого сезона, и последующим продолжением эксперимента в

вегетационных условиях была продемонстрирована высокая эффективность применения метода сорбционной биоремедиации для очистки *литострата песчаного*, сильно загрязненного нефтью. Показано, что проведение сорбционной биоремедиации литострата песчаного, загрязненного 15% нефти, на фоне внесения композитного сорбента АУДТ в дозе 20% может обеспечить снижение концентрации УВН до уровня ПДК (<15 г/кг - установлен в ХМАО для рекультивированных минеральных и смешанных почв лесохозяйственного назначения) примерно за период около 2-х сезонов. При этом, внесение композитного сорбента АУДТ на основе АУД и торфа (в соотношении 1:1) не только резко ускорило разложение УВН в сильно загрязненном литострате песчаном, но и обеспечило пониженное накопление токсичных продуктов окисления углеводородов, а также снизило их подвижность за счет сорбции и обеспечило снижение их биодоступности. Таким образом, при проведении сорбционной биоремедиации литострата песчаного на фоне внесения оптимальной дозы сорбента снижается токсическое действие этих поллютантов на микроорганизмы, растения и гидробионты. Об этом свидетельствует повышенная численность микроорганизмов-нефтедеструкторов, показатели роста трав, превосходящие их рост в чистом контроле, а также низкая биотоксичность водно-почвенного экстракта по отношению к дафниям в образцах с добавками 20% композитного сорбента.

В ходе этого эксперимента выявилась тенденция большей эффективности внесения одного сорбента (варианты 10С или 20С) по сравнению с его внесением вместе с биопрепаратом (варианты 10С+БП и 20С+БП, соответственно), особенно на первых этапах очистки нефтезагрязненного литострата песчаного. В первой серии образцов с одним сорбентом (без биопрепарата) наблюдалось ускоренное разложение углеводородов, сопровождавшееся меньшим накоплением ОУВН по сравнению с образцами второго варианта, для каждой дозы сорбента отдельно. Кроме того, в этих же образцах наблюдался более высокий максимум численности нефтедеструкторов и несколько меньшая фито- и биотоксичность почв. Однако, к концу наблюдений эти различия почти полностью нивелировалось.

С одной стороны, в исходном литострате песчаном было обнаружено присутствие аборигенных углеводород-окисляющих микроорганизмов – на уровне тысяч КОЕ/г, что объясняет способность внесения одного сорбента ускорять процесс разложения УВН за счет активации аборигенных микроорганизмов-нефтедеструкторов. Имеется достаточно много свидетельств об их положительном действии на скорость биоремедиации нефтезагрязненных почв (Зиннатшина, 2019; Lebkovska et al., 2011; Filonov et al., 2012). Однако в ряде работ сообщается об отсутствии эффекта применения биопрепаратов (Зиннатшина, 2019; Meeboon et al., 2017; Balogun et al., 2015).

С другой стороны, меньшую скорость разложения УВН в вариантах с одновременным внесением биопрепарата и сорбента по сравнению с одним сорбентом можно предположительно объяснить двумя причинами. Во-первых, это может быть связано с повышенной способностью инокулированных микроорганизмов выделять биосурфактанты, которые повышают биодоступность не только тяжелых фракций углеводов, но и токсичных продуктов их микробного разложения. Во-вторых, это может происходить вследствие повышенной способности микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата, разлагать углеводороды нефти. Следствием этого может стать ускоренное накопление токсичных метаболитов, вызывающих автоингибирование микроорганизмов. Возможно, этот эффект наиболее ярко выражен при очистке малогумусированных минеральных почв Западной Сибири. Отсюда следует, что необходим специальный подбор микробных штаммов для биопрепаратов, предназначенных для очистки минеральных почв этого региона. В любом случае, для изучения этого явления требуется проведение дополнительных исследований.

В наших предыдущих экспериментах по биоремедиации *суглинистой серой лесной почвы* при аналогичном загрязнении нефтью или нефтепродуктами (исходное содержание УВН 47–52 г/кг) были получены похожие результаты по влиянию натуральных сорбентов на скорость снижения суммарной концентрации углеводов. Использование ряда натуральных сорбентов (цеолит, каолинит, вермикулит, диатомит, биочар, торф, активированный уголь), внесенных в дозах от 2 до 10%, также ускоряло процесс очистки почвы и повышало ее качество, а наилучшее влияние на свойства нефтезагрязненной почвы и скорость биоремедиации оказал *смешанный сорбент АУД* (Зиннатшина и др., 2018; Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022). Однако, фитотоксичность контрольной СЛ почвы за тот же период снизилась более существенно, чем в ГП почве. При этом в СЛ почве положительный эффект обеспечивало внесение более низких доз сорбентов – 0,5–2%, чем в данной эксперименте, т.е. в случае загрязненной СЛ почвы оптимальное весовое соотношение сорбента к нефтяному загрязнению равнялось $(0,1 \div 0,4):1$, тогда как для ГП почвы это соотношение достигает $(0,4 \div 1):1$.

В то же время, из-за низкой буферности слабогумусированной песчаной глеево-подзолистой почвы при аналогичном уровне загрязнения контрольная ГП почва проявляла более высокую фитотоксичность по сравнению с СЛ почвой. Даже после 2-х сезонов обработки методом биоремедиации путем двукратного внесения биопрепарата Микробак и создания питательного режима и гидротермических условий, близких к оптимальным, в контрольной ГП почве *К* растения сильно ингибировались и/или погибали. Однако, при проведении биоремедиации этой же почвы на фоне внесения оптимальных доз натуральных

сорбентов, таких как вермикулит, торф, Спилсорб, ГАУ и АУД, при условии поддержания оптимальной кислотности почвы через 14 мес. обработки в ней достигались статистически ($p < 0,05$) более низкие (в 1,5–2,5 раз), чем в контроле остаточные концентрации УВН, а также их окисленных производных ОУВН.

Кроме того, при проведении сорбционной биоремедиации сильно загрязненной СЛ почвы (10-15%) хороший эффект оказывало внесение ГАУ в дозе примерно 1:1 по отношению к суммарному уровню нефтяного загрязнения. В случае малогумусированных минеральных почв Западной Сибири гораздо больший положительный эффект оказало внесение композитного сорбента АУДТ на основе АУД и торфа (1:1), внесенных в дозах примерно в 1,5-2 раза превышающих уровень нефтяного загрязнения.

Известно также несколько обзорных публикаций, в которых рассматривается влияние различных сорбентов на свойства фоновых почв земель сельскохозяйственного назначения (Зиннатшина, 2019). Продемонстрировано положительное влияние активированного угля (Стрижакова и др., 2004) и биочаров разного происхождения (Зиннатшина, 2019; Al-Wabel et al., 2017; Brendova et al., 2017; Moreira et al., 2017; Wahi et al., 2013). Показано, что внесение в почву диатомита приводит к более высокой устойчивости растений и других живых организмов к различным биогенным и абиогенным нагрузкам среды (Зиннатшина, 2019).

Наблюдения с помощью электронной микроскопии показало, что нефтяные углеводороды, сорбируясь на поверхности гранул ГАУ и глинистых частиц, таких как минералы каолинит и вермикулит, образуют пленку, к поверхности которой прикрепляются микроорганизмы (Зиннатшина, 2019). В результате образуется биопленка, состоящая из колоний микроорганизмов, которая может служить доказательством обратимости процесса сорбции нефтяных компонентов сорбентами (Зиннатшина и др., 2018; Chaerun et al., 2005).

Аналогичный эффект значительного подкисления нефтезагрязненных почв в присутствии высоких доз органических материалов (торф и солома) показано также в работах (Зиннатшина и др., 2018; Anyika et al., 2013; Pinto-Santamaria et al., 2019).

Способность углеродистых сорбентов (преимущественно биочара) повышать предельную влагоемкость нефтезагрязненных почв продемонстрирована в работах (Kondrashina et al., 2018; Dike et al., 2021), кроме того, биочар может использоваться для повышения предельной полевой влагоемкости почв сельхоз-назначения (Moreira et al., 2017; Rahman et al., 2020; Dike et al., 2021). Вспученный вермикулит часто используется в качестве мелиоранта, способного улучшать условия роста растений (Marcos, 2022). Добавки бентонита и цеолита к биodeградебельному композитному материалу повышали его гидрофильность и предельную влагоемкость (Silva et al., 2022).

Другие механизмы участвуют при взаимодействии нефтезагрязненных почв с такими минеральными сорбентами, как каолинит, который обладает ультрамикropористой структурой, недоступной для молекул воды или углеводов. Однако, каолинит может образовывать желеобразную массу с молекулами нефти, в результате, что способствует повышению влагоемкости нефтезагрязненных почв (Vasilyeva, Mikhedova et al., 2022).

Заключение

1. При умеренном и сильном исходном загрязнении нефтью минеральных почв Западной Сибири (5–15_{масс.}%), в ходе их биоремедиации методом биоаугментации, несмотря на значительное снижение остаточных концентраций углеводов до уровней, близких к ОДК или ПДК, почвы, как правило, проявляют повышенную фито- и биотоксичность, которая связана с накоплением подвижных и токсичных промежуточных продуктов микробного окисления углеводов, а также с низкой буферной способностью этих малогумусированных супесчаных почв.
2. Получены доказательства того, что при разработке критериев очистки нефтезагрязненных почв биологическими методами, наряду с учетом остаточных концентраций углеводов в почве, необходимо учитывать остаточные концентрации их токсичных продуктов биотрансформации, а также интегральную токсичность почв, оцениваемую по показателям их фито- и биотоксичности.
3. В результате проведенных исследований с двумя типами минеральных почв Западной Сибири (глево-подзолистая и подзол иллювиально-железистый), загрязненных умеренными и высокими дозами сырой нефти (от 5 до 13%), установлены оптимальные условия обработки почв методом сорбционной биоремедиации, а также определен состав и дозы композитного сорбента АУДТ, представляющего собой смесь торфа верхового и гранулированного активированного угля с добавкой диатомита.
4. Механизм положительного действия предложенного композитного сорбента заключается в его способности снижать токсичность нефтезагрязненных почв за счет сорбции токсичных компонентов нефти и продуктов их микробного окисления; способности сорбента поддерживать оптимальную полевую влажность и кислотность почвы в ходе всего периода обработки, а также повышать устойчивость растений, используемых при проведении фиторемедиации загрязненной почвы на стадии ее доочистки.
5. Апробация разработанного метода сорбционной биоремедиации в условиях, приближенных к естественным вблизи Самотлорского нефтяного месторождения, на литострате песчаном, сильно загрязненном сырой нефтью (15_{вес.}%), показала высокую

эффективность его применения в условиях *in situ* для ликвидации аварийных нефтеразливов на поверхности минеральных почв Западной Сибири.

Список сокращений

АЗФ - азофоска

АУД – смешанный сорбент на основе ГАУ и диатомита

АУДТ – композитный сорбент на основе АУД и торфа

АУТ – композитный сорбент на основе ГАУ и торфа

БП – биопрепарат

ГАУ – гранулированный активированный уголь

ДМ – доломитовая мука

КОЕ – колоние-образующие единицы

ЛПДС – линейная производственно-диспетчерская станция

ОДК – ориентировочно допустимая концентрация

ОУВН – продукты микробного окисления углеводов нефти

ПДК – предельная допустимая концентрация

УВН – углеводороды нефти

УНГКМ – Уренгойское нефтегазоконденсатное месторождение

УОМ – углеводород-окисляющие микроорганизмы

Список литературы

1. Адельфинская, Е.А. Использование активированного торфа для рекультивации грунтов, загрязненных нефтепродуктами / Е.А., Адельфинская, В.А. Мязин// Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности, 2020, №2.
2. Айад, Х.А.Э, Влияние состава композиционных покрытий на основе порошкообразного древесного угля на экранирование электромагнитных излучений. / Айад Х.А.Э., Белоусова Е.С., Пулко Т.А.// Доклады Белорусского Государственного Университета информатики и радиоэлектроники – 3(97) 2016 стр. 88-94
3. Амосова, А.А. Предложения по усовершенствованию технологии биорекультивации нефтезагрязненных почв с помощью сорбентов природного происхождения /А.А. Амосова, В.А. Горяйнов// E-Scio, 2021, №3 (54).
4. Анализ и оценка обоснований нормативов потерь нефти при транспортировке трубопроводным транспортом / Министерство Энергетики РФ// Москва, июль, 2016 (Электронный ресурс) URL:<https://minenergo.gov.ru>
5. Андреева, Т.А. Интегральная оценка воздействия нефтяного загрязнения на параметры химического и биологического состояния почв таежной зоны Западной Сибири: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.27 / Т.А. Андреева, Томск, 2005.
6. Антонинова, Н.Ю. Анализ процесса фиторемедиации нефтезагрязненного грунта с использованием торфо-диатомитового мелиоранта / Н.Ю. Антонинова, А.И. Усманов, А.В. Собенин// Проблемы недропользования, 2020, №4 (27).
7. Аринушкина, Е.В. Руководство по химическому анализу почв / Е.В. Аринушкина // Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1970, Изд. 2-е, переработ. и дополн. - 487 с.
8. Артюх, Е.А. Перспективы применения биосорбентов для очистки водоемов при ликвидации аварийных разливов нефти / Е.А. Артюх, А.С. Мазур, Т.В. Украинцева, Л.В. Костюк // Известия СПбГТИ (ТУ), 2014, №26 - 52
9. Атлас Ханты-Мансийского автономного округа–Югры / Ответственные редакторы: Дикунец В. А., Котова Т. В., Макеев В. Н., Тикунов В. С.// Ханты-Мансийск–Москва, 2005. –152 с.
10. Атлас Ямало-Ненецкого автономного округа//Омск: ФГУП «Омская картографическая фабрика», 2004. - 303 с.
11. Байчоров, Р. А. Действие нефти и нефтепродуктов на свойства почв и продуктивность растений/ Р.А. Байчоров, 2020 // E-Scio. 2020. Т. 2 – 41 - С. 143–148.

12. Бахирева, О.И. Получение биосорбентов для извлечения ионов Pb^{2+} / О.И. Бахирева, Н.С. Ефимова, Г.А. Козлова // Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. 2009. №2
13. Башкин, В.Н. Рекультивация нарушенных почв на Тазовском полуострове / В.Н. Башкин, Р.В. Галиулин // Жизнь Земли. - 2020.- №2.
14. Башкин, В.Н. Разработка биосорбента для ликвидации последствий углеводородных загрязнений на объектах нефтегазового комплекса/ В.Н. Башкин, В.А. Лужков, О.П. Трубицина // Проблемы анализа риска. - 2021.- №1.
15. Белозерцева И.А. Гранина Н.И. Воздействие разведки, добычи и переработки полезных ископаемых на почвы Сибири// *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 10-2. – С. 238-242.
16. Булдович, С. Н. Оценка устойчивости многолетнемерзлых пород к техногенным воздействиям при освоении северных территорий России / С.Н. Булдович // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности – 2012 - №1 – С. 47-60.
17. Булуктаев, А.А. Аварийный разлив нефти на территории Тенгутинского нефтегазового месторождения, расположенного в пределах заповедника «Черные земли» / А.А. Булуктаев // *Russian Journal of Ecosystem Ecology*. 2022. №3.
18. Васильева, Г.К. Нефть и нефтепродукты как загрязнители почв. Технология комбинированной физико-биологической очистки загрязненных почв / Васильева Г.К., Стрижакова Е.Р., Бочарникова Е.А. и др. // *Российский химический журнал*. 2013. – Т. 57. – №1. – С. 79-104.
19. Васильева, Г.К. Биоремедиация нефтезагрязненных почв в разных почвенно-климатических условиях Российской Федерации / Г.К. Васильева, Е.Е. Михедова, Е.Р. Стрижакова, А.Е. Филонов, Л.И. Ахметов// *Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов* Материалы VII Школы-конференции ИБФМ РАН, Пущино-2021, 6-8 декабря 2021. С. 21-22. ISBN 978-5-6047532-0-0 <https://elibrary.ru/item.asp?id=47280413>
20. Васильева, Г.К., Микробиологический метод очистки почв, загрязненных пропанидом и 3,4-дихлоранилином // Г.К. Васильева, Э.Г. Суровцева, В.С. Белоусов // *Микробиология*. 1994. 63(1):129-144.
21. Васильева, Г.К. Использование сорбентов для повышения эффективности биоремедиации загрязненных почв / Г.К. Васильева, Е.Р. Стрижакова, Е.А. Барышникова // Сорбенты как фактор качества жизни и здоровья. Матер. IV-й межд. конф. Белгород – 2012. – С. 194-200.

22. Вермикулит в экологии. SPBSluda.ru. (Электронный ресурс): spbsluda.ru/vermikulit/vermikulit-v-ekologii/.
23. Вермикулит. Википедия: свободной энциклопедии. (Электронный ресурс): ru.wikipedia.org/wiki/Вермикулит.
24. Ганеев, И. Г., Ремедиация и рекультивация техногенно деградированных земель/ И.Г. Ганеев, А.А. Кулагин// Вестник ОГУ. 2009. №6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/remediatsiya-i-rekultivatsiya-tehnogenno-degradirovannyh-zemel> (дата обращения: 10.04.2023).
25. Геннадиев, А. Н., Углеводороды в почвах: происхождение, состав, поведение (обзор) / А. Н. Геннадиев, Ю. И. Пиковский, А. С. Цибарт, М. А. Смирнова // Почвоведение, 2015, № 10. С. 1195–1209 DOI: 10.7868/S0032180X15100020.
26. Германова, С. Е. Экологические аспекты воздействия объектов нефтяной отрасли на состояние земель в России/ С.Е. Германова, Плющиков В. Г., Самброс Н. Б., Дремова Т. В., Петухов Н.В. // МСХ. 2021. №4.
27. Горбаев, А.В. Использование верхового торфа для очистки нефтезагрязнённых почв на Севере Иркутской области/ А. В. Горбаев // Московский экономический журнал. 2022. №11.
28. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2021 году» (Электронный ресурс) — М.: Минприроды России; МГУ имени М.В. Ломоносова, 2022. — 684 с.
29. Дмитриева Е. Д., Детоксицирующая способность гуминовых кислот торфов по отношению к нефтепродуктам в почвенной экосистеме/ Е.Д. Дмитриева, М.М. Герцен, А.А. Дремова // Химия растительного сырья. 2022. №2.
30. Добровольский В.В. География почв и основы почвоведения /В. В. Добровольский// 2001, -385 с., <https://ru-ecology.info/page/00429958504157602090005000076610>.
31. Доклад «Об экологической ситуации в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре в 2021 году» (Электронный ресурс) — Ханты-Мансийск, 2022 год. URL: <https://prirodnadzor.adhmao.ru/upload/iblock/fa0/МАКЕТ-DOKLADA-2021.docx>
32. Доусон, Г., Мерсер, Б. Обезвреживание токсичных отходов/ Г. Доусон, Б. Мерсер // Москва: Стройиздат, 1996. - 288 с.
33. Другов, Ю.С. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов / Ю.С. Другов, А.А. Родин. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 270 с.
34. Евдокимова, Г.А. Очищение почв и сточных вод от нефтепродуктов комбинированными методами в условиях Севера/ Г.А. Евдокимова, А.Ш. Гершенкоп, Н.П. Мозгова, В.А. Мязин, Н.В. Фокина // Вестник Кольского научного центра РАН. 2010. №3.

35. Желтобрюхов, В.Ф., Рекультивация нефтезагрязненных земель с применением препаратов на основе минералов природного происхождения / В. Ф. Желтобрюхов, В. М. Осипов, Н. В. Колодницкая, В. Н. Стяжин, А. В. Карпов// Астраханский вестник экологического образования. -2013. -№2 (24).
36. Зиннатшина, Л.В. Влияние сорбентов на скорость биоремедиации и свойства почвы, загрязненной смесью нефтепродуктов / Л.В. Зиннатшина, Е.Р. Стрижакова, А.В. Даньшина, Г.К. Васильева // Естественные и технические науки. – 2018. – №9. – С. 24-30.
37. Зиннатшина, Л.В. Экологическая оценка влияния натуральных сорбентов на эффективность биоремедиации нефтезагрязнённой серой лесной почвы, Диссертация канд. Биол. Наук. 03.02.08 - экология / Л.В. Зиннатшина М.:2019г.
38. Исмаилов, Н.М., Самоочищающая способность почв от нефти и нефтепродуктов в зависимости от структуры углеводов/ Н.М. Исмаилов, А.С. Гасимова// Аридные экосистемы. 2016. №4 (69). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/samoochischayuschaya-sposobnost-pochv-ot-nefti-i-nefteproduktov-v-zavisimosti-ot-struktury-uglevodorodov> (дата обращения: 10.04.2023).
39. ИСО 11269-1:2012 - Качество почвы. Определение воздействия загрязняющих веществ на флору почвы., 2012 г.
40. Капелькина, Л.П., Экотоксикологическая оценка буровых шламов нефтяных месторождений биологическими методами / Л.П. Капелькина, Т.В. Бардина, М.В. Чугунова, Л.Г. Бакина, А.О. Герасимов, В.И. Бардина, Л.А. Малышкина // Приборы. 2014. №3 (165). С. 50-55.
41. Кинле, Х., Бадер, Е. Активные угли и их промышленное применение / Х. Кинле, Е. Бадер// Москва: Химия, - 1984. - 216 с.
42. Киреева, Н.А. Влияние загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами на численность и видовой состав микромицетов / Н.А. Киреева, Н.Ф. Галимзянова // Почвоведение. – 1995. – № 2. – С. 211–216.
43. Колотова, О.В., Исследование эффективности деструкции приоритетных органических загрязнителей микроорганизмами/ О.В. Колотова, И.В. Могилевская, И.В. Владимцева, А.В. Ермоловский // Известия ТулГУ. Науки о Земле. - 2021. - №1.
44. Кузнецов, А.Е. Прикладная экобиотехнология: учебное пособие: в 2 т. / А.Е. Кузнецов, Н.Б. Градова, С.В. Лушников, М. Энгельхарт, Т. Вайсер, М.В. Чеботаева. // М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, т. 1., 2010. – 629 с.

45. Кураков, А.В. Биоиндикация и реабилитация экосистем при нефтяных загрязнениях /А.В. Кураков, В.В. Ильинский, С.В. Котелевцев, А.П. Садчиков//М.: Графикон, 2006. – 336 с.
46. Месяц, С.П., Активизация микробиологических процессов окисления мазутных загрязнений грунтов/ С.П. Месяц, А.Б. Шемякина // Вестник МГТУ. 2009. №4.
47. Методы переработки нефти 15.10.2010 (Электронный ресурс) <https://neftegaz.ru/science/petrochemistry/332108-metody-pererabotki-nefti/> (дата обращения: 10.04.2023).
48. Михедова, Е.Е. Применение биопрепаратов в задачах рекультивации нефтезагрязнений почвенного покрова / Е.Е. Михедова, Т.Н. Абашина // Защита Окруж. Среды Нефтегаз. Комплекс. – 2020. – № 4(295). – С. 10-14.
49. Михедова, Е.Е. Оценка эффективности применения натуральных сорбентов для ускорения биоремедиации нефтезагрязненных почв северных регионов России / Е.Е. Михедова, М.И. Узорина, Е.Р. Стрижакова, Л.И. Ахметов, Г.К. Васильева. // (С. 122-123) *В кн.: Почва как компонент биосферы: эволюция, функционирование и экологические аспекты.* / Матер. Всерос. науч. конф., посв. 50-летию ИФХиБПП РАН. 2020 - 122-123 с.
50. Михедова, Е.Е. Разработка экологичного метода сорбционной биоремедиации для рекультивации нефтезагрязненных песчаных почв Западной Сибири / Е.Е. Михедова, М.И. Узорина // (с. 215-216.) *В кн.: Нефтепромысловая Химия. Матер. VIII Межд. (XVI Всерос.) науч.-практ. Конф...*, Москва, РГУ Нефти и Газа им. И.М. Губкина, 2021. – 215-216 с.
51. Михедова, Е.Е. Применение натуральных сорбентов для восстановления нефтезагрязненных почвенных экосистем Западной Сибири / Е. Е. Михедова, Г. К. Васильева, Е. Р. Стрижакова, М. А. Калинин // *В кн.: Мониторинг, охрана и восстановление почвенных экосистем в условиях антропогенной нагрузки.* / Матер. Межд. мол. науч. шк., Ростов-на-Дону, ЮФУ, 27–30 сентября 2022 г. / Ростов-на-Дону; Таганрог: Изд-во ЮФУ, 2022. – 644 с.
52. Михедова, Е.Е. Геологические проблемы нефтегазового комплекса и пути их решения / Е.Е. Михедова, В.Г. Аковецкий, А.В. Афанасьев // *Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе.* 2020. № 2 (293). С. 7-14.
53. Михедова, Е.Е. Влияние натуральных сорбентов на скорость биоремедиации глеево-подзолистой почвы северной части Западной Сибири / Михедова Е.Е., Васильева Г.К., Стрижакова Е. Р., Узорина М. И., Ахметов Л. И. // *Природные ресурсы Арктики и Субарктики*, - 2023, - №3.

54. Михедова, Е.Е. Сорбционная биоремедиация минеральных нефтезагрязненных почв Западной Сибири / Е.Е. Михедова, Г.К. Васильева, Е.Р. Стрижакова // *В кн.: «Ремедиация почв: инновационные подходы к восстановлению экологических функций» Сборник материалов Межд. мол. науч. школы М.: МГУ, 2023*
55. Михедова, Е.Е. Разработка технологии сорбционной биоремедиация почв, загрязненных органическими поллютантами разных классов. / Михедова Е.Е., Г.К. Васильева, Е.Р. Стрижакова // *Материалы VII Всерос. конф. с межд. уч. «Экобиотех» посв. 70-летию и УФИЦ РАН. г. Уфа, 4-7 октября. 2021 г., Уфа: УИБ УФИЦ РАН. 2021. - С. 189-192. ISBN 978-5-6047532-0-0 <https://elibrary.ru/item.asp?id=47280413>*
56. Мурзина, Г.А., Разработка способа утилизации нефтесодержащих отходов методом биокомпостирования/ Г.А. Мурзина, А.А. Успабаева// *Вестник магистратуры. 2012. №3.*
57. Мухин, В.М., Активные угли России / В.М. Мухин, А.В. Тарасов, В.Н. Клушин// *Москва: Металлургия, - 2000. - 352 с.*
58. Мязин, В.А. Влияние гранулированного активированного угля на скорость биоремедиации почв Мурманской области, исторически загрязненных нефтепродуктами / В. А. Мязин, Е. А. Исакова, Г. К. Васильева // *Проблемы региональной экологии. - 2020. №2.*
59. Нефтегазовая промышленность: техническая библиотека. Энергоресурсы и топливо." (Электронный ресурс) neftegaz.ru/tech-library/energoresursy-toplivo/141832-neft/.
60. Окмянская, В.М. К вопросу о рекультивации нарушенных земель на примере месторождения Ямало-Ненецкого Автономного Округа/ В.М. Окмянская // *ИАСЖ. 2022. №6.*
61. Официальный сайт полномочного представителя Президента Российской Федерации в Уральском федеральном округе/ (Электронный ресурс). <http://uralfo.gov.ru/district/КНМ/>.
62. Перистый, В. А., Сравнительная оценка сорбционной способности активированного угля и цитрогипса по отношению к нефтепродуктам/ В.А. Перистый, Л.Ф. Перистая, И.В. Индина, М.Н. Япрынцева // *Региональные геосистемы. 2009. №11 (66).*
63. Пиковский, Ю.И. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами / Ю.И. Пиковский, А.Н. Геннадиев, С.С. Чернянский, Г.Н. Сахаров // *Почвоведение. – 2003. – № 9. – С. 1132-1140.*
64. Пинский, Д. Л. Загрязнение почв тяжелыми металлами и органическими поллютантами: проблемы и пути их решения / Д.Л. Пинский, Г.К. Васильева, В.Н. Башкин, Е.Е. Михедова// (С. 19-23) *В кн.: Безопасный Север – чистая Арктика. Сб. матер. V Всерос.*

- (с межд. уч.) науч.-практ. конф., 13-14.04.2023 г., Сургут / ред. А. А. Исаев; – Сургут: СурГУ, 2023. – 336 с.
65. Писарчук, А.Д. Эколого-микробиологические аспекты биоремедиации нефтезагрязненных экосистем и угольных карьеров, Диссертация канд. Биол. Наук. 03.02.08 - экология / А.Д. Писарчук М.: 2014
 66. ПНД Ф 16.1:2.2.22-98 Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в минеральных, органогенных, органоминеральных почвах и донных отложениях методом ИК-спектрометрии). – Москва, 2006. – 21 с.
 67. ПНД Ф Т 14.1:2:4.12-06 Т 16.1:2.3.3.9-06 Токсикологические методы анализа. Методика определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по смертности дафний (*Daphnia magna* Straus). – Москва, 2006. – 45 с.
 68. Порядок определения размеров ущерба от загрязнения земель химическими веществами». Утв. Председателем Комитета РФ по земельным ресурсам и землеустройству Н.В. Комовым 10 ноября 1993 года, Министром охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ В.И. Даниловым-Данильяном 18 ноября 1993 г.
 69. Постановление правительства Ханты-Мансийского Автономного Округа – Югры от 10 декабря 2004 года N 466-п «Об утверждении регионального норматива "допустимое остаточное содержание нефти и нефтепродуктов в почвах после проведения рекультивационных и иных восстановительных работ на территории Ханты-Мансийского Автономного Округа - Югры"».
 70. Розанов Б.Г. Почвенная номенклатура на русском и иностранных языках (рекомендации к материалам X Межд. конгресса почвоведом)/ Б.Г. Розанов// Книга первая. Составитель д.б.н. М.1974. – 483 с.
 71. Привалова, Н.М. Воздействие нефти и нефтепродуктов на окружающую среду/Н.М. Привалова// Научный журнал КубГАУ. - 2017. - №5. – С. 22-99
 72. Рекультивация земель: Мероприятия по рекультивации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами (Электронный ресурс). – Режим доступа: <http://ecodelo.org>.
 73. Рогозина, Е.А. Актуальные вопросы проблемы очистки нефтезагрязненных почв: Научно-онлайнное издание. (Электронный ресурс). / Е.А. Рогозина // Нефтегазовая геология. Теория и практика. – 2006. – Режим доступа: <http://www.ngtp.ru>
 74. Руденко, Е.Ю. Биологическая ремедиация нефтезагрязненных почв/Е.Ю. Руденко//Аэробика и экология экосистем// АЭЭ. 2012. №5-6.

75. Рябов, В.Д. Химия нефти и газа: учеб. Пособие. / В.Д. Рябов. //2-е изд., испр. и доп. М.: ИД «ФОРУМ»: ИНФРА-М, 2017. – 336 с.: ил.
76. Садовникова, Л.К. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении / Л.К. Садовникова, Д.С. Орлов, И.Н. Лозановская. // М.: Высшая школа, 2008. – 334 с.
77. Сайт Правительства ЯНАО, раздел Общие сведения о регионе/ (Электронный ресурс) География Ямала <https://yanao.ru/region/obshchie-svedeniya/geografia.php>
78. Середина, В.П. Нефтезагрязненные почвы: свойства и рекультивация / В.П. Середина, Т.А. Андреева, Т.П. Алексеева, Т.И. Бурмистрова, Н.Н. Терещенко// Томск: изд-во ТПУ, 2006. – 270 с.
79. Середина, В.П., Физическое состояние фоновых почв нефтяных месторождений средней тайги Западной Сибири / В.П. Середина, М.Е. Садыков, С.Л. Блохина// Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 4 (16). С. 17–29.
80. Селезнев, В.А. Исследование бетонов, наполненных диатомитом и цеолитом / В.А. Селезнев // АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ АРХИТЕКТУРЫ И СТРОИТЕЛЬСТВА, Саранск, 2020, стр.220-222
81. СП 2.1.7.1386-03 Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления, Постановление от 16 июня 2003 г. №144 2003. – (в ред. Изменения №1 от 12.01.2010 №2, Изменений и дополнений от 31.03.2011 №28) -15 с.
82. Слюсаревский, А.В. Сравнительный эколого-экономический анализ методом рекультивации нефтезагрязненных почв путем биорекультивации in situ и механической замены грунта / А. В. Слюсаревский, Л.В. Зиннатшина, Г.К. Васильева // Экология и промышленность России. – 2018. – Т. 22. – № 11. – С. 40-45.
83. Созина, И.Д. Микробиологическая ремедиация нефтезагрязненных почв / И.Д. Созина, А.С. Данилов // Записки Горного института. 2023. №260.
84. Состояние окружающей среды на территории Ханты-Мансийского автономного округа – Югры за 2021 год (Электронный ресурс). URL: <https://prirodnadzor.admhmao.ru/doklady-i-otchyety/otchety-o-deyatelnosti-prirodnadzora/itogi-ser/2021/7121565/sostoyanie-okruzhayushchey-sredy-na-territorii-yugry-za-2021-god/>. Дата обращения: 01.02.2023.
85. СП 2.1.7.1386-03 Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления, 2003. – 20 с.
86. Справка о состоянии и перспективах использования минерально-сырьевой базы Ханты-Мансийского Автономного Округа – Югры (на 15.06.2020) (Электронный ресурс). Справка подготовлена ФГБУ «ВСЕ-ГЕИ» в рамках выполнения Государственного

- задания Федерального агентства по недропользованию от 26.12.2019 г. № 049-00017-20-04.
87. Статистический бюллетень. Основные показатели охраны окружающей среды// (Электронный ресурс). ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ГОСУДАРСТВЕННОЙ СТАТИСТИКИ, Москва, 2021
 88. Стрижакова, Е.Р. Использование активированного угля при биоремедиации сильнозагрязненных почв / Е.Р. Стрижакова, Г.К. Васильева // Материалы по изучению русских почв. – 2004. – Т. 5. – № 32. – С. 101–105.
 89. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии: Учебное пособие для вузов / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.
 90. Терехова, В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы / В.А. Терехова // Почвоведение. – 2011. – № 2. – С. 190-198.
 91. Терехова, В.А. Применение фитотестирования для решения задач экологического почвоведения / В.А. Терехова, Л.П. Воронина, О.В. Николаева, Т.В. Бардина, О.А. Калмацкая, А.П. Кирюшина, П.В. Учанов, В.Д. Креславский, Г.К. Васильева // *Использование и охрана природных ресурсов в России*. — 2016. – № 3. – С. 36–41.
 92. Терпелец, В.И. Морфологические признаки почв. Учебно-методическое пособие / В.И. Терпелец, В.Н. Слюсарев // Краснодар: Типогр. Куб. Гос. Аграрного Ун-та, 2016. – 32 с.
 93. Тимергазина, И.Ф. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами / И.Ф. Тимергазина, Л.С. Переходова // *Нефтегазовая геология. Теория и практика*. – 2012. – Т. 7. – № 1.
 94. Фасхутдинова, Е.Р. Перспективы использования микробиома почв угольных отвалов с целью ремедиации антропогенно нарушенных экосистем /Е.Р. Фасхутдинова, М.А. Осинцева, О.А. Неверова// *Техника и технология пищевых производств*. 2021. №4.
 95. Федеральный закон от 10.01.2002 г. № 7-ФЗ "Об охране окружающей среды" (Электронный ресурс). Статья 46, пункт 14, подпункты 4-5. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_34661/6badaab0989b794d736d9eb8e3a3ac44bf40a039/. Дата обращения: 31.01.2023.
 96. Федорова, О.С. Влияние биосорбента «унисорб-био» с иммобилизованной микрофлорой родов *vasillus* и *trichoderma* на восстановление почвы в условиях нефтяного загрязнения/ О.С. Федорова, П.Н. Бондарь, Т.В. Рязанова. // *Журнал СФУ. Химия*. 2022. №2.
 97. Фомичева, Н.В. Новые биосредства для ремедиации нефтезагрязнённой почвы / Н.В. Фомичева, Г.Ю. Рабинович, Ю.Д. Смирнова, А.Е. Филонов. // *Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология*. 2020.

98. Хазиев, Ф.Х. Методы почвенной энзимологии/ Ф.Х. Хазиев // М.: Наука, 2005. - 252 с.
99. Шполянская, Н.А. Мерзлая зона литосферы Западной Сибири и тенденции ее развития/ Н.А. Шполянская// М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. 167 с.
100. Яценко, В.С. Способ снижения экологических рисков при проведении ин ситу биоремедиации нефтезагрязненных почв / В.С. Яценко, Е.Р. Стрижакова, Г.К. Васильева, Л.В. Зиннатшина// Проблемы анализа риска. 2014. Т. 11. № 5. С. 6-17.
101. ISO 11269-1: 2012 Качество почвы. Определение воздействия загрязняющих веществ на флору почвы. Часть 1. Метод измерения замедления роста корней. – 2012. – С. 24.
102. Abbaspour, A. Remediation of an oil contaminated soil by two native plants treated with biochar and mycorrhizae. / A. Abbaspour, F. Zohrabi, V. Dorostkar, A. Faz, J.A. Acosta // J. Environ. Manag. 2020 - 254, 109755. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109755>.
103. Abdel-Shafy, H.I. Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment: an Overview, Microbial Action on Hydrocarbons / H.I. Abdel-Shafy, M.S. Mansour // Springer, 2018, pp. 353–386.
104. Adebajo, M.O. Porous materials for oil spill cleanup: A review of synthesis and absorbing properties / M.O. Adebajo, R.L. Frost, J.T. Klopogge, O. Carmody, S. Kokot // J. Porous Mater., 2003, 10, 159–170.
105. Adeyemo, A. Dynamics of CO2 Evolution during Bioremediation of Clayey and Sandy Soils Contaminated with Used Lubricating Oil /A. Adeyemo // Asian Journal of Advances in Agricultural Research. – 2019. – P. 1-12.
106. Agamuthu, P. Potential of biowastes to remediate diesel fuel contaminated soil/ P. Agamuthu, A. Dadrasnia// GlobalNEST International Journal – 2013. – V.15.
107. Agarry, S.E. Kinetic modelling and half-life study of adsorptive bioremediation of soil artificially contaminated with Bonny light crude oil / S.E. Agarry, K. Oghenejoboh, B.O. Solomon // J Ecol Engin. –2015. – V. 16. – № 3. – P. 1–13.
108. Aivalioti, M., BTEX and MTBE adsorption onto raw and thermally modified diatomite / M. Aivalioti, I. Vamvasakis, E. Gidaracos // J. Hazard. Mater., 2010, 178, 136–143.
109. Aksakal, E.L. Effects of diatomite on soil physical properties / E.L. Aksakal, I. Angin, T. Oztas. // Catena. – 2012. – V. 88. – №1. – P. 1-5.
110. Ali, M.H., Biochar and Bacillus sp. MN54 assisted phytoremediation of diesel and plant growth promotion of maize in hydrocarbons contaminated soil. / M.H. Ali, M.I. Khan, S. Bashir, M. Azam, M. Naveed, R. Qadri, S. Bashir, F. Mehmood, M.A. Shoukat, Y. Li // Agronomy 2021 - 11 (9), 1795. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091795>.
111. Alvim, G.M., Aeration and sawdust application effects as structural material in the bioremediation of clayey acid soils contaminated with diesel oil. / G.M. Alvim, P.P. Pontes //

- Int. Soil Water Conserv. Res. 2018 - 6 (3), 253–260.
<https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2018.04.002>.
112. Al-Wabel, M.I. Impact of biochar properties on soil conditions and agricultural sustainability: A review Land degradation and development / M.I. Al-Wabel, Q. Hussain, A.R.A. Usman, M. Ahmad, A. Abduljabbar, A.S. Sallam, Y.S. Ok. – 2017.
113. Anyika, C., Comparison of attenuation of petroleum hydrocarbons in surface and subsurface soils amended with biostimulants. / C. Anyika, L.J. Shaw, C.D. Collins //Niger. J. Technol. Res. 2013 - 7 (3), 53–62. <https://doi.org/10.4314/njtr.v7i3.88844>.
114. Aziz, S. Enhanced bioremediation of diesel range hydrocarbons in soil using biochar made from organic wastes. / S. Aziz, M.I. Ali, U. Farooq, A. Jamal, F.J. Liu, H. He, H. Guo, M. Urynowicz, Z. Huang. // Environmental Monitoring and Assessment. – 2020. – V.192 – № 9.:569.
115. Balogun, S.A. Screening of hydrocarbon oclastic bacteria using redox indicator 2,6-dichlorophenol indophenol / S.A. Balogun, T.C. Shofola, A.O. Okedeji // Global Nest Journal. – 2015. – V.17. – №3. – P. 565-573.
116. Balogun, S.A. Screening of hydrocarbon oclastic bacteria using redox indicator 2,6-dichlorophenol indophenol / S.A. Balogun, T.C. Shofola, A.O. Okedeji // Global Nest Journal. – 2015. – V.17. – №3. – P. 565-573.
117. Bandura, L. Application of mineral sorbents for removal of petroleum substances: a review / L. Bandura, A. Wozuk, D. Kolodynska, W. Franus // Minerals. – 2017. – V.7. – P.37. Basuki, W. Biodegradation of Used Synthetic Lubricating oil by Brevundimonas diminuta AKL 1.6 / W. Basuki // Makara J. Science. – 2017. – V. 21. – № 3. – P. 136-142.
118. Bao, H.Y. Effects of biochar and organic substrates on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and microbial community structure in PAHs-contaminated soils/ H.Y. Bao, J.F. Wang, H. Zhang, J. Li, H. Li, F.Y. Wu // Journal of Hazardous Material – 2020. – V.385 – № 121595.
119. Boll, E.S. Polar metabolites of polycyclic aromatic compounds from fungi are potential soil and groundwater contaminants / E.S. Boll, A.R. Johnsen, J.H. Christensen // Chemosphere – 2015 – V.119 – P. 250-257.
120. Boyraz, D. H. Nalbant. 2015. Comparison of zeolite (clinoptilolite) with diatomite and pumice as soil conditioners in agricultural soils / D. Boyraz, H. Nalbant. // Pakistan Journal of Agricultural Sciences. – 2015. – V. 52. – № 4. – P. 923-929.
121. Brendova, K. Biochar physicochemical parameters as a result of feedstock material and pyrolysis temperature: predictable for the fate of biochar in soil? / K. Brendova, J. Szakova, M. Lhotka, T. Krulikovska, M. Puncochar, P. Tlustos // Environ Geochem Health. – 2017. – V. 39. – № 6. – P. 1381-1395.

122. Carmody, O., Adsorption of hydrocarbons on organo-clays—implications for oil spill remediation / O. Carmody, R. Frost, Y. Xi, S. Kokot // *J. Colloid Interface Sci.*, 2007, 305, 17–24.
123. Carvalho, M.F. A GAC biofilm reactor for the continuous degradation of 4-chlorophenol: treatment efficiency and microbial analyses / M.F. Carvalho, I. Vasconcelos, A.T. Bull, P.M.L. Castro // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2001. – V. 57. – P. 419-426.
124. Cerniglia, C.E. Fungal Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Past, Present and Future Applications in Bioremediation / C.E. Cerniglia // *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.* - 1997. - Vol. 19. - P. 324-333. - URL: <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900459>.
125. Chaerun, S.K. Interaction between clay minerals and hydrocarbon-utilizing indigenous microorganisms in high concentrations of heavy oil: implications for bioremediation / S.K. Chaerun, K. Tazaki, R. Asada // *Clay Minerals.* – 2005. – V.40. – № 1. – P. 105-114.
126. Chaudhary, D.K. New insights into bioremediation strategies for oil-contaminated soil in cold environments / D.K. Chaudhary, J. Kim // *Biodegradation.* - 2019. - Vol. 142. - P. 58-72.
127. Chauhan, A. Kinetics of biodegradation of p-nitrophenol by different bacteria / A. Chauhan, B. Bhushan, S. K. Samanta, R. K. Jain // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* - 2000. - Vol. 274, Issue 3. - P. 626-630. - URL: <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3193>.
128. Cho, B.H. Laboratory-scale bioremediation of oil- contaminated soil of Kuwait with soil amendment materials / B.H. Cho, H. Chino, H. Tsuji, T. Kunito, K. Nagaoka, S. Otsuka, K. Yamashita, S. Matsumoto, H. Oyaizu // *Chemosphere.* – 1997. – V.35. – № 7. – P. 1599-1611
129. Chu, H.D. Bio-diatomite dynamic membrane reactor for micro-polluted surface water treatment / H.D. Chu, B. Cao, Z. Dong, // *Qiang Water Res.* – 2010. – V. 44. – P. 1573-1579.
130. Cornelis, A.M. 2001. The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil-polluted soils / A.M. Cornelis, Van Gestel., J. Jaap, Van der Waarde, J.C.M. Derksen, E. Eline van der Hoek, F.X.W. Martin, S. Bouwens, B. Rusch, R. Kronenburg, N.M.G. Stokman // *Environ Toxicol Chem.* – 2001. – V. 20. – № 7. – P. 1438-1449.
131. Crooks, R. Extensive investigation into field based responses to a silica fertilizers / R. Crooks, P. Prentice // *Silicon.* – 2017. – V. 9. – № 2. – P. 301-304.
132. Cubitto, M.A. Bioremediation of crude oil-contaminated soil by immobilized bacteria on a agroindustrial waste-sunflower husks / M.A. Cubitto, A.R. Gentili // *Biorem J.* – 2015. – V.19. - №4. – P. 277-286.
133. Cui, J.-Q., Comparative study on different remediation strategies applied in petroleum-contaminated soils / J.-Q. Cui, Q.-S. He, M.-H. Liu, H. Chen, M.-B. Sun, J.-P. Wen // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020, Vol. 17, No. 5, p. 1606.

134. Dados, A., Rapid remediation of soil heavily contaminated with hydrocarbons: a comparison of different approaches. / A. Dados, M. Omirou, K. Demetriou, C. Papastephanow, I.M. Ioannides // *Ann. Microbiol.* 2015 - 65, 241–251. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0856-5>.
135. De la Huz, R., Other Environmental Health Issues: Oil Spill / R. De la Huz, M. Lastra, J. López // In *Encyclopedia of Environmental Health*; Nriagu, J.O., Ed.; Elsevier: Burlington, NJ, USA – 2018 - pp. 251–255.
136. Dessalew, G. Use of industrial diatomite wastes from beer production to improve soil fertility and cereal yields *J. Cleaner Production* / G. Dessalew, A. Beyene, A. Nebiyu, M.L. Ruelle. – 2017. – V. 157. – P. 22-29
137. Dike, C.C., Can biochar be an effective and reliable biostimulating agent for the remediation of hydrocarbon-contaminated soils? / C.C. Dike, E. Shahsavari, A. Surapaneni, K. Shah, A.S. Ball // *Environ. Int.* – 2021 -154, 106553. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106553>.
138. Ferguson, D.K., Natural attenuation of spilled crude oil by cold-adapted soil bacterial communities at a decommissioned High Arctic oil well site / D.K. Ferguson, C. Li, C. Jiang, A. Chakraborty, S.E. Grasby, C.R.J. Hubert // *Science of The Total Environment.* - 2020. - Vol. 722. - Article 137258.
139. Fida, H., Combined application of biochar, compost, and bacterial consortia with Italian ryegrass enhanced phytoremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. / H. Fida, H. Imran, K.A.H. Ali, M.Y. Shad, M. Iqbal, G. Soja, T.G.Z. Reichenauer, S. Yousaf. // *Environ. Exp. Bot.* – 2018 - 153, 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.05.012>.
140. Filonov, A. Oil-Spill Bioremediation, Using a Commercial Biopreparation “MicroBak” and a Consortium of Plasmid-Bearing Strains “V&O” with Associated Plants. In: *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites* / A. Filonov, A. Ovchinnikova, A. Vetrova, I. Nechaeva, K. Petrikov, E. Vlasova, L. Akhmetov, I. Puntus, A. Shestopalov, V. Zabelin, A. Boronin // / Ed. by Dr. Laura Romero-Zerón. Rijeka: InTech. – 2012. – P. 291–318.
141. Filonov, A.E., Regimes of separated and combined cultivation of oildegrading microorganisms of genera *Pseudomonas* and *Rhodococcus*. / A.E. Filonov, J.V. Petrikov, T.V. Yakshina, I.E. Puntus, E.P. Vlasova, I.A. Nechaeva, V.A. Samoilenko // *Biotechnology* 2008 - 6, 80–85. www.biotech-jr.ru/?view=article&id=1085&ref=0.
142. Forbes.ru. "Норникель выплатил рекордный штраф за экологическую катастрофу в Арктике" (Электронный ресурс). URL: <https://www.forbes.ru/newsroom/biznes/423055-nornikel-vyplatil-rekordnyy-shtraf-za-ologicheskuyu-katastrofu-v-arktike>. Дата обращения: 01.02.2023.

143. Hoang, A.T., Sorbent-based devices for the removal of spilled oil from water: a review / A.T. Hoang, X.P. Nguyen, X.Q. Duong et al. // *Environmental Science and Pollution Research*. - 2021. - Vol. 28. - P. 28876-28910. – <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13775-z>.
144. Hu, W.W. Bioremediation of crude oil contaminated soil with immobilized microorganism in Yellow river delta / W.W. Hu, Z.Y. Wang, J.D. Liu, Y. Xu, F.M. Li, B.S. Xing, D.M. Gao // *Huanjing Kexue yu Jishu*. – 2011. – V.34. – № 3. – P. 116-120.
145. Hussain, F., Combined application of biochar, compost, and bacterial consortia with Italian ryegrass enhanced phytoremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil / F. Hussain, I. Hussain, A.H. Khan, Y.S. Muhammad, M. Iqbal, G. Soja, T.G. Reichenauer, S. Yousaf // *Environmental and Experimental Botany*. - 2018. - T. 153. - C. 80-88. - DOI: 10.1016/j.envexpbot.2018.05.012.
146. Islam, Md. S. Next-generation pyrosequencing analysis of microbial biofilm communities on granular activated carbon in treatment of oil sands process-affected water / Md. S. Islam, Y. Zhang, K.N. Mc Phedran, Y. Liu, M.G. El-Din // *Appl Environ Microbiol*. – 2015. – V. 81. – P. 4037-4048.
147. Johnson, U.E. Bioremediation of spent engine oil contaminated soil by using fungus, *Penicillium* sp. / U.E. Johnson, A.P. Ishoro, M.A. Akpan // *Inter Lett Natural Sci*. – 2016. – V. 59. – P. 82-91.
148. Joshiba, G.J., Investigation of magnetic silica nanocomposite immobilized *Pseudomonas fluorescens* as a biosorbent for the effective sequestration of Rhodamine B from aqueous systems / G.J. Joshiba, P.S. Kumar, M. Govarathanan // *Environmental Pollution*. - 2021. - Volume 269. - Article 116173.
149. Keselman, G.S., Environmental protection in the production, transport and storage of oil and gas/ G.S. Keselman, E.A. Makhmudbekov// Moscow: Nedra, 1981, p. 241. <https://rosnedra.gov.ru/data/Fast/Files/202011/dac0c1a955fb363afb7931193f942d39.pdf>
150. Kondrashina, V. Influence of activated carbon and other additives on bioremediation rate and characteristics of petroleum-contaminated soils / V. Kondrashina, E. Strijakova, L. Zinnatshina, E. Bocharnikova, G. Vasilyeva // *Soil Sci*. – 2018. – V. 138. – № 4. – P. 150-159.
151. Kong, L. Biochar accelerates PAHs biodegradation in petroleum-polluted soil by biostimulation strategy / L. Kong, Y. Gao, Q. Zhou, X. J. Zhao // *Hazard Materials*. – 2018. – V. 343. – P. 276-284.
152. Korneykova, M.V. Bioremediation of soil of the Kola Peninsula (Murmansk region) contaminated with diesel fuel / M.V. Korneykova, V.A. Myazin, N.V. Fokina, A.A. Chaporgina // *Geography Environment Sustainability*. - 2021. - Vol. 14, No. 1. - P. 171-176. - DOI: 10.24057/2071-9388-2019-170.

153. Ławniczak, Ł., Microbial Degradation of Hydrocarbons—Basic Principles for Bioremediation: A Review / Ł. Ławniczak, M. Wozniak-Karczewska, A.P. Loibner, H.J. Heipieper, Ł. Chrzanowski // *Molecules*. 2020, Vol. 25, No. 4, p. 856.
154. Liang, Y. Porous biocarrier- enhanced biodegradation of crude oil contaminated soil / Y. Liang, X. Zhang, D. Dai, L. Guanghe // *Int Biodeter Biodeg.* – 2009. – V. 63. – № 1. – P. 80-87.
155. Liang, Y.T. Porous biocarrier-enhanced biodegradation of crude oil contaminated soil *Inter Biodeter Biodegr* / Y.T. Liang, X. Zhang, D.J. Dai // *Inter Biodeter Biodegr.* – 2008. – V.63. – № 1. – P. 80-87
156. Liu, W. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on phytoremediation of petroleum-contaminated saline-alkali soil / W. Liu, J. Hou, Q. Wang, L. Ding, Y. Luo // *Chemosphere.* - 2014. - Vol. 117. - P. 303-308. - Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.026>.
157. Ma J.F. Silicon uptake and accumulation of higher plants. / J.F. Ma, N. Yamaji.//*Trends in Plant Science*. 2006, V. 11, No 8, p. 392-397.
158. Mambwe, M., Remediation technologies for oil contaminated soil/M. Mambwe, K.K. Kalebaila, T. Johnson//*Global J. Environ. Sci. Manage.* 7(3): 419-438, 2021
159. Mao, D. Combining HPLC-GC/MS, GC/MS, and selected ecotoxicity assays for detailed monitoring of petroleum hydrocarbon degradation in soil and leaching water / D. Mao, R. Lookman, H. Van de Weghe, R. Weltens, G. Vanermen, N. De Brucker, L. Diels// *Environ. Sci. Technol* – 2009. 43, 7651-7657.
160. Marcos, C., Effect of water immersion on raw and expanded Ugandan vermiculite. / C. Marcos // *Minerals* 2022 - 12 (1), 23. <https://doi.org/10.3390/min12010023>.
161. Meeboon, N. Changes in bacterial diversity associated with bioremediation of used lubricating oil in tropical soils / N. Meeboon, M.C. Leewis, S. Kaewsuwan // *Arch Microbiol.* – 2017. – V.199. – № 6. – P. 839-851.
162. Mikhedova, E. /Aspectos ecológicos del uso de sorbentes para mejorar la eficiencia de bioremediación de suelos contaminados por petróleo /E. Mikhedova, M. Uzorina//*Fuentes, El reventón energético*, 2021,19(1), 65–73. <https://doi.org/10.18273/revfue.v19n1-2021006>
163. Minnikova, T. Influence of the Biochar on Petroleum Hydrocarbon Degradation Intensity and Ecological Condition of Haplic Chernozem / T. Minnikova, S. Kolesnikov, A. Ruseva, K. Kazeev, T. Minkina, S. Mandzhieva, S. Sushkova.// *Eurasian Journal of Soil Science*. 2022, 11(2), -P. 157–166. <https://doi.org/10.18393/ejss.1037798>
164. Mishra, A. Novel fungal consortium for bioremediation of metals and dyes from mixed waste stream / A. Mishra, A. Malik // *Bioresource Technology.* - 2014. - Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.047>.

165. Moreira, M.T. The prospective use of biochar as adsorption matrix – a review from a lifecycle perspective. / Moreira, M.T., Noya, I., Feijoo, G., // *Bioresour. Technol.* – 2017 - 246, 135–141 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.041>.
166. Muangchinda, C. Diesel oil removal by *Serratia* sp. W4-01 immobilized in chitosan-activated carbon beads / C. Muangchinda, C. Chamcheun, R. Sawatsing, O. Pinyakong // *Environ Sci Pollut Res.* – 2018. – V. 25. – № 27. – P. 26927-26938.
167. Myazin, V.A., The effect of activated carbon on the bioremediation rate of the soils of Murmansk region historically contaminated with oil products. / V.A. Myazin, E.A. Isakova, G.K. Vasilyeva // *Probl. Reg. Ecol.* - 2020 - 2, 20–26 10.24.411/17280323X-2020-12020 (in Russian).
168. Myazin, V.A., The effectiveness of biostimulation, bioaugmentation and sorption-biological treatment of soil contaminated with petroleum products in the Russian Subarctic. / V.A. Myazin, M.V. Korneykova, A.A. Chaporgina, N.V. Fokina, G.K. Vasilyeva // *Microorganisms* 2021 - 9, 1722. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081722>.
169. Onwosi, C.O., Bioremediation of diesel-contaminated soil by composting with locally generated bulking agents. / C.O. Onwosi, F.J.C. Odibo, C.K. Enebechi, A.S. Nwankwegu, A.I. Ikele, O.C. Okeh // *Soil Sediment Contam. Int. J.* -2017 - 26 (4), 438–456. <https://doi.org/10.1080/15320383.2017.1348337>.
170. Ossai, I., Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review / I. Ossai, A. Aziz, A. Hassan, S. H. Fauziah // *Environmental Technology & Innovation.* - 2019. - Vol. 17. - P. 100526. - doi: 10.1016/j.eti.2019.100526.
171. Pizarro-Tobías, P. Restoration of a mediterranean forest after a fire: bioremediation and rhizoremediation field-scale trial / P. Pizarro-Tobías, M. Fernández, J.L. Niqui, J. Solano, E. Duque, J.-L. Ramos, A. Roca // *Microb. Biotechnol.* 2015 V. 8, № 1 P. 77–92.
172. Półka, M., Efficiency analysis of the sorbents used to adsorb the vapors of petroleum products during rescue and firefighting actions / M. Półka, B. Kukfisz, P. Wysocki, P. Polakovic, M. Kvarcak // *Przem. Chem.* - 2015. - Vol. 1. - P. 109–113.
173. Qin, G., Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar / G. Qin, D. Gong, M.Y. Fan // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2013- 85, 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.07.004>.
174. Rahman, M.G.K.M., Biochar and organic amendments for sustainable soil carbon and soil health / M.G.K.M. Rahman, M.M. Rahman, M.S. Alam, M.Z. Kamal, H.A. Mashuk, R. Datta, R.S. Meena // 2020, In: Datta, R., et al. (Eds.), *Carbon and Nitrogen Cycling in Soil*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7264-3_3.

175. Riser-Roberts, E. Remediation of Petroleum Contaminated Soils / E. Riser-Roberts// Biological, Physical, and Chemical Processes. CRC Press, Boca Raton. – 1998.
176. Saha, R.C., A review - bioremediation of oil sludge contaminated soil / R.C. Saha, A. Reza, M.S. Hasan, P. Saha // E3S Web of conferences. - 2019. - Vol. 96. - P. 01004. - doi: 10.1051/e3sconf/2019104.
177. Samanta, S. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation / S. Samanta, O. Singh, R.K. Jain // Trends in Biotechnology. - 2002. - Vol. 20. - P. 243-248. - doi: 10.1016/S0167-7799(02)01943-1.
178. Sayed, K., Bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) by bioaugmentation and biostimulation in water with floating oil spill containment booms as bioreactor basin / K. Sayed, L. Baloo, N.K. Sharma // Int. J. Environ. Res. Public Health. - 2021. - Vol. 18. - P. 2226. - doi: 10.3390/ijerph18052226.
179. Semenyuk, N.N. Effect of activated charcoal on bioremediation of diesel fuel contaminated soil / N.N. Semenyuk, V.S. Yatsenko, E.R. Strijakova, A.E. Filonov, K.V. Petrikov, Y.A. Zavgorodnyaya, G.K. Vasilyeva // Microbiology. - 2014. - Vol. 83. - No. 5. - P. 589-598.
180. Silvana, A.C.E. Microbial remediation performance of environmental liabilities from oil spills in Patagonian soils: a laboratory-scale / A.C.E. Silvana, A.J. Olave, P.M. Schmid, N.S. Nudelman // Inter J Res Chem Environ. – 2014. – V. 4. – № 3. – P. 119-126.
181. Skirdin, K.V., An Analysis of Oil Sorbents: Types, Characteristics, and Effectiveness / K. V. Skirdin, O. V. Kazmina // Petroleum Chemistry — 2022. — Vol. 62, iss. 10. — P. 1139-1153
182. Straube, W.L. Bench-scale optimization of bioaugmentation strategies for treatment of soils contaminated with high molecular weight polyaromatic hydrocarbons / W.L. Straube, J. Jones-Meehan, P.H. Pritchard // Res Conserv Recycl. – 1999. – V.27. – № 1-2. – P. 27-37.
183. Su Dan, L.P. Biodegradation of benzo(a)pyrene in soil by *Mucor* sp. SF06 and *Bacillus* sp. SB02 co-immobilized on vermiculite / L.P. Su Dan, F. Stagnitti // Environ Scie-China J. – 2006. – V.18. – № 6. – P. 1204-1209.
184. Tao, K. Impacts of *Pantoea* agglomerans strain and cation-modified clay minerals on the adsorption and biodegradation of phenanthrene / K. Tao, S. Zhao, P. Gao, L. Wang, H. Jia // Ecotox Environ Safety. – 2018. – V. 161. – P. 237-244.
185. Terra-Ecology.ru. "Самые громкие разливы нефтепродуктов в 2021 году" (Электронный ресурс). URL: <https://terra-ecology.ru/stati/samye-gromkie-razlivy-nefteproduktov-v-2021-godu/>. Дата обращения: 01.02.2023.
186. Tessmer, C.H. Impact of oxygen-containing surface functional groups on activated carbon adsorption of phenols / C.H. Tessmer, R.D. Vidic, L.J. Uranovski // Environ Sci Technol. – 1997. – V. 31. – P.1872-1878.

187. Tic, W. Characteristics of adsorbents used to remove petroleum contaminants from soil and wastewater / W. Tic // *Przemysł Chemiczny*. - 2015. - Vol. 94, Issue 1. - P. 79-84.
188. Ukpaka, C.P., Modeling of *Azadirachta indica* leaves powder efficiency for the remediation of soil contaminated with crude oil / C.P. Ukpaka, O.N. Eno // *Chemistry International*. - 2021. - Vol. 7, No. 1. - P. 62-70. - doi: 10.5281/zenodo.4032367.
189. Van Hamme, J.D. Recent Advances in Petroleum Microbiol / J.D. Van Hamme, A. Singh, O.P. Ward // *Mol. Biol. R.* – 2003. – V. 67. – № 4. – P. 503-549.
190. Vasilyeva, G.K., Use of activated carbon for soil bioremediation / G.K. Vasilyeva, E.R. Strijakova, P.J. Shea // *Soil and water pollution monitoring, protection and remediation* - 2006. - p.309-322.
191. Vasilyeva, G.K. Express-phytotest for choosing conditions and following process of soil remediation. / G.K. Vasilyeva, V.S. Kondrashina, E.R. Strijakova, D.L. Pinsky.// *Environmental Geochemistry and Health*. 2020, DOI: 10.1007/s10653-020-00727-8.
192. Vasilyeva, G.K. Dynamics of PCB removal and detoxification in historically contaminated soils amended with activated carbon / G.K. Vasilyeva, E.R. Strijakova, S.N. Nikolaeva, A.T. Lebedev, P.J. Shea// *Environmental Pollution*. 2010. v. 158, №3, p.770-777.
193. Vasilyeva, G., Adsorptive bioremediation of soil highly contaminated with crude oil / G. Vasilyeva, V. Kondrashina, E. Strijakova, J.J. Ortega-Calvo // *Science of the Total Environment*. - 2020. - Vol. 706, No. 135739.
194. Vasilyeva, G. Use of natural sorbents for accelerated bioremediation of grey forest soil contaminated with crude oil / G. Vasilyeva, E. Mikhedova, L. Zinnatshina, E. Strijakova, L. Akhmetov, S. Sushkova, J.-J. Ortega-Calvo// *Science of The Total Environment* - 2022-12 - Journal article., DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.157952
195. Wahi, R., Oil Removal from Aqueous State by Natural Fibrous Sorbent: An Overview / Wahi, R., Luqman, C.A., Thomas, C.S., Zainab, N.Y., Mohsen, N.M.// *Separation and Purification Technology*. 2013. Vol. 118. P. 389-404. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2013.04.015>.
196. Wang, D., Adsorption of oils from pure liquid and oil-water emulsion on hydrophobic silica aerogels / D. Wang, E. McLaughlin, R. Pfeffer, Y.S. Lin // *Sep. Purif. Technol.* - 2012. - Vol. 99. - P. 28-35.
197. Wang, Z.Y., Biodegradation of crude oil in contaminated soils by free and immobilized microorganisms / Z.Y. Wang, Y. Xu, H.Y. Wang // *Pedosphere*. – 2012. - Vol. 22, No. 5. - P. 717-725.

198. Watson, J.S. Formation of carboxylic acids during aerobic biodegradation of crude oil and evidence of microbial oxidation of hopanes / J.S. Watson, D.M. Jones, R.P.J. Swannell, A.C.T. van Duin// *Organic Geochemistry* – 2002. – V.33 – №10 – P. 1153-1169.
199. Wołejko, E. The ways to increase efficiency of soil bioremediation / E. Wołejko, U. Wydro, T. Łoboda // *ECOL CHEM ENG S.* - 2016. - Vol. 23, Issue 1. - P. 155-174. DOI: 10.1515/eces-2016-0011.
200. Wu, M., Bioremediation of hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil and microbial population and activity determination / M. Wu, W. Li, W.A. Dick, X. Ye, K. Chen, D. Kost, L. Chen // *Chemosphere.* - 2017. - Vol. 169. - P. 124-130.
201. Yuniati, M D. Bioremediation of petroleum-contaminated soil: A Review / M.D. Yuniati // *Earth and Environmental Science.* - 2018. - Vol. 118. - 012063. DOI: 10.1088/1755-1315/118/1/012063.
202. Zamparas, M., Application of sorbents for oil spill cleanup focusing on natural-based modified materials: A review / M. Zamparas, D. Tzivras, V. Dracopoulos, T. Ioannides // *Molecules.* - 2020. - Vol. 25. - P. 4522. DOI: 10.3390/molecules25194522.
203. Zavgorodnyaya, Y. Effect of introduction of clays, mineral fertilizers, and soil ameliorants on decomposition of organic pollutants in oil-polluted sand under conditions of model experiment / Y. Zavgorodnyaya, A.A. Stepanov, S.Y. Trofimov, Y. Farkhodov, V.N. Pervakova, T.A. Sokolova, R.S. Aptikaev// *Moscow University Soil Science Bulletin* 72 – 2017. – V.72 – №1 – P. 35-41.
204. Zhang, W.P. The role of diatomite particles in the activated sludge system for treating coal gasification wastewater / W.P. Zhang, H. Rao, X.U. Zhang // *Jingli Chin J. Chem. Eng.* – 2009. – V.17. – №1. – P. 167-170.

Приложения

Приложение № 1.1.

АКТ

выполнении работ
по апробации инновационного метода ремедиации
нефтезагрязненной почвы с помощью композитного биосорбента
(Этап №1. Подготовка образцов почвы, внесение биосорбента)

от "10" июня 2021 г.

г. Сургут

Мы, нижеподписавшиеся, главный инженер Сургутского УМН АО «Транснефть-Сибирь» Чайкин Евгений Александрович с одной стороны, и директор Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН (ИФХ и БПП РАН), член-корреспондент РАН Алексеев Андрей Олегович, составили настоящий Акт о нижеследующем.

В присутствии начальника службы экологической безопасности и рационального природопользования Сургутского УМН АО «Транснефть-Сибирь» Калинин Максима Александровича м.н.с. ИФХиБПП РАН, аспиранткой ПуцГЕНИ Михедовой Елизаветой Евгеньевной была проведена работа по апробации метода сорбционной биоремедиации нефтезагрязненной почвы с помощью композитного сорбента, разработанного в лаборатории физико-химии почв ИФХиБПП РАН под руководством ведущего научного сотрудника, к.б.н. Васильевой Галиной Кирилловной. Апробация метода проводилась на территории ЛДПС «Западный Сургут» Сургутского УМН АО «Транснефть-Сибирь». 9 июня 2021 года были заложены 6 мезокосмов в пластиковых контейнерах размером 0,7 x 0,4 x 0,3 м, которые были заполнены почвой (литострат песчаный) массой 40 кг, отобранного из верхнего 20 см-го слоя почвы рядом с территорией ЛДПС. Территория ЛДПС и прилегающая к ней территория представлены техногенным поверхностным образованием – литостратом песчаным. Перед закладкой в мезокосмы почва была тщательно перемешана. В 5 мезокосмах была проведена имитация поверхностного нефтеразлива путем добавления нефти на поверхность почвы в количестве 15% от общей массы почвы. Один мезокосм оставлен в качестве чистого контроля.

1. Схема расположения образцов на площадке:

№2. Контроль с биопрепаратом	№4. Сорбент 20%	№6. Сорбент 20% + биопрепарат
№1. Чистый контроль	№3. Сорбент 10%	№5. Сорбент 10% + биопрепарат

В ходе обработки образцов вносили следующие компоненты.

1. Азофоска: удобрение азотно-фосфорно-калийное. Азота (N) - 16%, фосфора (P_2O_5) – 16%, калия (K_2O) – 16%
 2. Доломитовая мука: суммарная массовая доля карбонатов кальция и магния не менее 80%, в том числе карбоната магния не более 12%
 3. Композитный сорбент на основе активированного угля и торфа в двух дозах:
 - А. 10%
 - Б. 20%
2. Затем, 10 июня, в соответствии с разработанной технологией, во все мезокосмы были внесены: доломитовая мука и минеральные удобрения, один мезокосм был оставлен в качестве контроля, а в 4 мезокосма (образцы №3, №4, №5, №6) дополнительно внесен композитный сорбент в концентрациях 10% или 20%, из них в 2-х мезокосмах (образцы №5 и №6) сорбент был обработан сертифицированным биопрепаратом нефтеструктуром «ОксидОйл».

ОТ «Транснефть-Сибирь»



Исполнитель
Начальник службы ЭБ и РП
Сургутского УМН
АО «Транснефть-Сибирь»
Калинин М.А.

/Е.А. Чайкин/

ОТ ИФХиБПП РАН



Исполнитель
М.и.с. ИФХиБПП РАН, аспирант
ПуцГЕНИ

/А. О. Алексеев /

Михедова Е.Е.

АКТ
о выполнении работ
по апробации инновационного метода сорбционной биоремедиации
нефтезагрязненной почвы с помощью композитного сорбента
(этап №2. Исследование образцов, проведение фитотестирования)

от "30 " октября 2021 г.

г. Сургут

Мы, нижеподписавшиеся, главный инженер Сургутского УМН АО «Транснефть – Сибирь» Чайкин Евгений Александрович с одной стороны, и директор Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН (ИФХ и БПП РАН), член-корреспондент РАН Алексеев Андрей Олегович, составили настоящий Акт о нижеследующем.

В присутствии начальника службы экологической безопасности и рационального природопользования Сургутского УМН АО «Транснефть-Сибирь» Калинина Максима Александровича м.н.с. ИФХиБПП РАН, аспиранткой ПушГЕНИ Михедовой Елизаветой Евгеньевной была проведена работа по апробации метода сорбционной биоремедиации нефтезагрязненной почвы с помощью композитного сорбента, разработанного в лаборатории физико-химии почв ИФХиБПП РАН под руководством ведущего научного сотрудника, к.б.н. Васильевой Галиной Кирилловной. Работа проводилась на экспериментальной площадке ЛПДС «Западный Сургут» Сургутского УМН АО «Транснефть-Сибирь», где 9 июня 2021 года был начат эксперимент по апробации метода. Для выполнения работы были подготовлены 6 контейнеров с образцами почвы массой 40 кг, отобранной из верхнего слоя песчаной почвы вблизи ЛПДС. Из них в 5 контейнеров была внесена нефть в количестве 15% (вес/вес), а 6-й контейнер использовался в качестве чистого контроля, куда нефть не добавлялась. 10 июня 2021 г., т.е. через сутки после поверхностного загрязнения, почва была тщательно перемешана и в опытные образцы почвы были внесены следующие компоненты.

1. Азофоска: удобрение азотно-фосфорно-калийное, содержащее 16% азота (N), 16% фосфора (P_2O_5) и 16% калия (K_2O).
2. Доломитовая мука: суммарная массовая доля карбонатов кальция и магния не менее 80%, в том числе карбоната магния не более 12%.
3. Композитный сорбент на основе активированного угля и торфа в двух дозах: 10% и 20%
4. Биопрепарат Биойл, разработанный в лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН.

Схема закладки опыта представлена в таблице 1. Контейнеры с добавленными компонентами были расположены на открытой экспериментальной площадке, в условиях максимально приближенных к реальной аварийной ситуации.

Таблица 1. Схема закладки эксперимента на площадке ЛПДС

№2. Контроль, биопрепарат	№4. Сорбент 20%	№6. Сорбент 20% + биопрепарат
№1. Чистый контроль	№3. Сорбент 10%	№5. Сорбент 10% + биопрепарат

Для определения динамики процесса очищения почвы за период с 9 июня 2021 г. по 20 октября 2021 ежемесячно отбирали образцы исследуемой почвы для проведения анализов на содержание углеводородов нефти (УВН), а также для определения pH почвы. Образцы почвы отбирали методом конверта, из 5 точек и анализировали смешанный образец. Даты отбора проб:

1. 3 июля 2021 г.
2. 19 августа 2021 г.
3. 20 октября 2021 г.

Химические анализы почвенных образцов проводили в аккредитованной эколого-аналитической лаборатории филиала «Сургутское управление магистральных нефтепроводов» Акционерного общества «Транснефть-Сибирь». Содержание нефтепродуктов в образцах определяли методом ПНДФ 16.1:2.2.22-98, а водородный показатель (pH водной вытяжки) определяли по ГОСТу 26423-85.

Для определения степени токсичности почвы спустя 2 месяца после начала обработки было проведено биотестирование путем посева травосмеси. Применялась травосмесь «Лужайка», так как ее состав наиболее схож с составом травосмесей, применяющихся в ХМАО при рекультивации нефтезагрязненных почв. Посев был произведен 19 августа 2021 года. Предварительно почва была тщательно перемешана. После внесения семян почву увлажняли отстоянной водопроводной водой. Через 3 недели были зафиксированы результаты, представленные в виде графиков в Приложении.

На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что внесение композитного сорбента в дозе 10 и особенно 20% обеспечило значительное ускорение снижения содержания нефтепродуктов в почве по сравнению с контролем, в который вносили один биопрепарат. В присутствии композитного сорбента в дозе 20% (образец № 4) поддерживался pH водной

вытяжки, близкий к нейтральному, и наблюдалось наиболее быстрое снижение концентрации углеводов.

Уже через 3,2 месяца после начала обработки загрязненной почвы, в варианте с добавкой 20% сорбента содержание УВН снизилось со 150 до 35 г/кг по сравнению с 120 г/кг в контроле (т.е. на 77% и 20% соответственно). При этом, в вариантах с нефтезагрязненной почвой с добавками композитного сорбента (с биопрепаратом или без биопрепарата) наблюдался рост посеянных трав в отличие от контрольного варианта с внесением одного биопрепарата, в котором растения полностью погибали. Наилучший рост растений наблюдался в варианте с внесением одного сорбента в дозе 20% без биопрепарата, что может свидетельствовать о наибольшем снижении уровня фитотоксичности почвы.

В связи с тем, что уровень ПДК по нефтепродуктам в почве (равный 15 г/кг) за первые 3 месяца не был достигнут, наблюдения будут продолжены.

Приложением к данному акту являются графики по полученным данным, а также фотографии проведенного фитотестирования.

ОТ АО «Транснефть-Сибирь»



М.П.
Исполнитель
Начальник службы ЭБ и РП
Сургутского УМН
АО «Транснефть-Сибирь»
Калинин М.А.



ОТ ИФХиБПП РАН

М.П. /А. О. Алексеев /

Исполнитель
М.и.с. ИФХиБПП РАН, аспирант
ПушГЕНИ

Михедова Е.Е.

Приложение

к Акту выполненных работ по апробации инновационного метода сорбционной биоремедиации почвы, загрязненной сырой нефтью

Результаты определения pH почвы и содержания в ней углеводородов нефти в ходе эксперимента, заложенного на площадке ЛПДС.

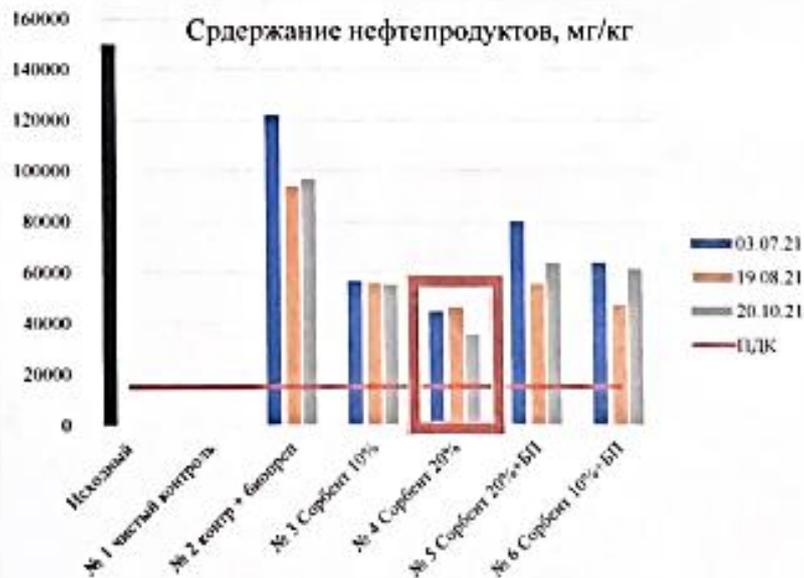
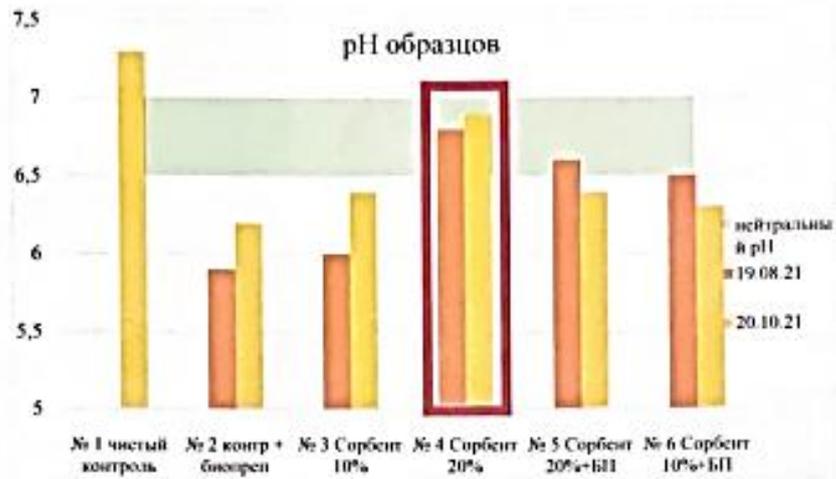




Рисунок 1. Общий вид сосудов с почвой сразу после посева травосмеси



Рисунок 2. Общий вид выросших трав через 3 недели после посева



Рисунок 3. Приближенные изображения фитотестирования через 3 недели после посева.

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Пушкинский государственный естественно-научный институт»
(ПушГЕНИ)

СПРАВКА О ВНЕДРЕНИИ

Настоящим подтверждаем, что результаты диссертационного исследования, Михедовой Е.Е. на тему: «Экологическая оценка сорбционной биоремедиации для очистки нефтезагрязненных минеральных почв Западной Сибири» обладают актуальностью, представляют практический интерес и были использованы в лекционных курсах и на практических занятиях по следующей дисциплине: «Экология загрязненных почв».

Проректор по образовательной деятельности



С.А. Никонова
С.А. Никонова