

На правах рукописи



ШИГАПОВ АЙРАТ МИНИМАРСИЛЬЕВИЧ

**Биоремедиация нефтезагрязненных почв органическими
компонентами отходов лесозаготовительной промышленности
(на примере дерново-подзолистых почв Уральского
федерального округа)**

03.02.08 – Экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Екатеринбург - 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном
учреждении высшего образования
«Уральский государственный университет путей сообщения»

Научный кандидат биологических наук,
руководитель: **Гаврилин Игорь Игоревич**

Официальные **Терещенко Наталья Николаевна**
оппоненты: доктор биологических наук, старший научный сотрудник,
«Сибирский НИИ сельского хозяйства и торфа – филиал ФГБНУ
Сибирского федерального научного центра агrobiотехнологий
РАН», ведущий научный сотрудник

Дегтярева Ирина Александровна
доктор биологических наук,
ФГБНУ «Татарский научно-исследовательский институт
агрохимии и почвоведения»,
заведующая отделом агроэкологии и микробиологии

Ведущая Федеральное государственное бюджетное образовательное
организация: учреждение высшего образования «Тюменский
индустриальный университет»

Защита состоится «___» _____ г. в ____ ч. на заседании
диссертационного совета Д. 212.025.07 во Владимирском государственном
университете имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича
Столетовых (600000, Владимир, ул. Горького, 87, корпус 1, аудитория 335).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ВлГУ и на
сайте diss.vlsu.ru.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью, можно
присылать по адресу: 600000, г. Владимир, ул. Горького, 87, ВлГУ, кафедра
биологии и экологии.

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент



О.Н. Сахно

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами нарушает и угнетает все жизненные процессы: подавляется дыхательная активность и микробное самоочищение, изменяется естественное соотношение численности микроорганизмов и направление обмена веществ, происходит накопление загрязняющих веществ в виде трудноокисляемых продуктов. В зонах техногенного воздействия основная масса поступающего загрязнения нефтью и нефтепродуктами, как правило, находится в системе «атмосфера-гидросфера-педосфера», а именно в трех компонентах экосистем: приземный слой атмосферы, поверхностные воды и почвенный покров. В результате загрязнения нефтью и нефтепродуктами компонентов экосистем через воздушную, водную и почвенную среды происходит поступление загрязнителей в биологические циклы и в отдельные живые организмы, их дальнейшая трансформация, аккумуляция, перераспределение и перемещение.

На сегодняшний день наиболее широко применяемые для обезвреживания нефтезагрязненных почв способы очистки имеют ряд определенных недостатков: не происходит «утилизация» загрязняющих веществ, которые остаются практически в неизменном виде, либо в процессе обезвреживания осуществляется негативное воздействие на компоненты окружающей среды, биологический ущерб от которого в некоторых случаях оказывается больше, чем возможный от загрязнения нефтью.

На основании вышеизложенного, научные исследования по повышению эффективности очистки компонентов окружающей среды от загрязнения нефтью и нефтепродуктами, являются **актуальными** и имеют большую **практическую и экономическую** значимость.

Цель диссертационной работы: Исследовать эффективность использования органических компонентов отходов лесозаготовительной промышленности для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

Для достижения цели решались следующие **задачи**:

1. Провести камеральные и полевые модельные эксперименты с аборигенной растительностью на нефтезагрязненных почвах.
2. Определить методом биотестирования уровень прямого токсического воздействия различных концентраций нефти на анатомо-морфометрические характеристики растений, произрастающих на загрязненных почвах.
3. Проанализировать в исследуемых образцах общую численность и разнообразие микроорганизмов: бактерий, актиномицетов и микроскопических грибов.
4. Оценить сорбционные свойства наиболее широко применяемых сорбентов (мох канадский торфяной (*Canadian Sphagnum Peat moss - Spill Sorb*), сорбирующий материал «*Мегасорб*») и предлагаемых органических структурообразующих субстратов (опил сосновый, торф, мох сфагнум), и

определить глубину проникновения нефти в почвенный горизонт исследуемого типа почв.

5. Разработать способы повышения эффективности биоремедиации нефтезагрязненных почв, обеспечивающие степень очистки почв до уровня ориентировочно допустимых концентраций.

Научная новизна работы

В результате исследований разработан способ повышения эффективности биоремедиации, включающий в себя технологическую схему очистки и восстановления нефтезагрязненных почв.

Впервые при внедрении в нефтезагрязненную почву органических структурообразующих субстратов (опила соснового) определена зависимость общей численности и разнообразия микроорганизмов, бактерий, актиномицетов, кокков и микроскопических грибов. Впервые установлена скорость и глубина проникновения нефти в почвенные горизонты для дерново-подзолистой почвы Уральского федерального округа (далее – УФО). По результатам биотестирования проведена оценка фитотоксичности нефтезагрязненных почв с применением тест-культур.

Впервые проведена оценка возможного предотвращенного ущерба, причиненного почвам в результате химического загрязнения почв (земель) вследствие пролива нефтепродуктов на территории УФО.

Новизна технических решений подтверждена патентом РФ на изобретение: № 2014135129/13 (056883) «Способ очистки почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами».

Практическая значимость работы

На основании результатов работы разработан, апробирован и внедрен способ очистки почв от нефтяного загрязнения, основанный на повышении эффективности биологических методов очистки, и обеспечивающий очистку почв от углеводородов нефти до уровня ориентировочно допустимых концентраций.

Предлагаемый подход к восстановлению загрязненных почв применен при очистке модельного загрязненного участка в полевых условиях на территории Свердловской области и апробирован при рекультивации нефтезагрязненных территорий Ханты-Мансийского автономного округа – Югра на ООО Производственная экологическая компания «Промышленная экология» (г. Тюмень, Тюменская область).

Результаты работы рекомендуются к использованию предприятиями нефтедобывающей, нефтеперерабатывающей и нефтехимической промышленности при ликвидации аварийных разливов нефти и нефтепродуктов, рекультивации шламовых амбаров, а также при рекультивации ранее накопленного экологического ущерба почвам, подвергнутым нефтяному загрязнению.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Внедрение в состав загрязненных нефтью почв органических структурообразующих субстратов и посев на их поверхность семян растений повышает эффективность биодеградации нефтяного загрязнения,

за счет роста общей численности почвенной микрофлоры, в особенности численности углеводородокисляющих микроорганизмов, бактерий и микроскопических грибов.

2. Наиболее эффективным в качестве фитомелиоранта является *Avena sativa* L., который среди исследованных тест-культур менее других подвержен токсическому воздействию нефти и наиболее приспособлен к произрастанию на загрязненных нефтью почвах.

3. Применение предлагаемого способа очистки дерново-подзолистой почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами способствует снижению содержания нефти в загрязненных почвах до 88 % при уровне загрязнения 5 л на 1 м² и 85 % при 10 л на 1 м², что в 2,97 раза меньше значения в контрольном слабозагрязненном варианте и в 3,13 раза в контрольном сильнозагрязненном соответственно.

Реализация и внедрение результатов работы. Работа и ряд исследований выполнены в рамках государственной бюджетной научно-исследовательской работы кафедры «Техносферная безопасность» ФГБОУ ВПО «УрГУПС» на тему: «Защита ландшафтных систем от загрязнения углеводородами, поступающими с объектов железнодорожного транспорта» по направлениям: 502.37 «Мероприятия по защите и восстановлению природы и ее объектов», 504.05 «Вредные или опасные воздействия деятельности человека на окружающую среду», 504.54 «Ландшафт. Экология ландшафта», 631.427.22 «Методика микробиологического исследования почвы путем исследования микрофлоры», № 01201258236; в работе использовалось оборудование лаборатории мониторинга окружающей среды кафедры НОЦ «Техносферная безопасность» ФГБОУ ВО «УрГУПС».

Апробация работы. Основные научные результаты и положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на конференциях различного уровня: Всероссийская научно-техническая конференция (с международным участием) «Транспорт Урала-2013» (Екатеринбург, 2013); Международная научно-практическая конференция «С новым Федеральным законом - к новому качеству транспортного образования» (Екатеринбург, 2013); Всероссийская научно-практическая конференция «Экологическая безопасность современных социально-экономических систем» (Волгоград, 2013); IV междисциплинарная молодежная научная конференция «Информационная школа молодого ученого» при УрО РАН (Екатеринбург, 2014); Всероссийская школа молодых ученых "Мы - за будущее!" (Ульяновск, 2014); V междисциплинарная молодежная научная конференция «Информационная школа молодого ученого» при УрО РАН (Екатеринбург, 2015); Всероссийская научно-практическая конференция «Актуальные проблемы, современное состояние, инновации в области природообустройства и строительства» (Благовещенск, 2015); Международная научно-практическая конференция «Комплексные проблемы техносферной безопасности» (Воронеж, 2015) и других.

По теме диссертации опубликовано 11 публикаций, включая 4 статьи в

журналах, рекомендованных к изданию ВАК РФ. Подготовлен и опубликован отчет по государственной бюджетной научно-исследовательской работе (114 с., 18 рис., 12 табл., 66 источников). Получены патенты на изобретение (Патент РФ № 2014135129/13 (056883), МПК 8 B09C1/00 «Способ очистки почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами»); (Патент РФ № 2015112553/13 (019670), МПК E02B15/04, E01H12/00 «Способ очистки поверхности открытых водоемов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами»).

Личный вклад автора состоит в разработке экономически эффективного и экологически безопасного способа повышения эффективности применения комплекса биологических методов очистки нефтезагрязненных почв, в проведении экспериментальных камеральных и полевых исследований, в интерпретации, обобщении и апробации полученных результатов, формулировании выводов, в подготовке публикаций и патентов по выполненной работе.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 5 глав, выводов, заключения, списка использованной литературы и приложений. Работа изложена на 227 страницах, содержит 37 таблиц, 45 рисунков и 264 литературных источника, в том числе 26 иностранных.

Благодарность. Автор выражает глубокую признательность и благодарность профессору ФГБОУ ВО «УрГУПС» Бондаренко В.В., а также всем сотрудникам кафедры «Техносферная безопасность» за всестороннюю поддержку в проведении исследований и работы над диссертацией.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, отражены научная новизна и практическая значимость, представлены основные положения, выносимые на защиту, изложена структура диссертации.

В первой главе приведены результаты анализа современной научно-технической литературы и патентного поиска по проблемам загрязнения и очистки нефтезагрязненных почв. Рассматриваются источники и пути поступления нефти и нефтепродуктов в почву, направление распределения и механизмы трансформации в почвах углеводородов нефти и нефтепродуктов, а также изменение физико-химических свойств почв и биологической активности почвы после загрязнения. Приведен обзор существующих методов рекультивации нефтезагрязненных почв. Представлено обоснование того, что одним из наиболее распространенных и безопасных методов очистки нефтезагрязненных почв являются биологические методы (Киреева Н.А., Пиковский Ю.И., Назаров А.В., Салангина Л.А., Евдокимова Г.А., Дегтярева И.А., Бондаренко В.В., Young, L.Y. и др.).

Во второй главе проведен анализ климатических условий, почвенного и растительного покрова региона исследований. Дана оценка экологического состояния почв территории УФО за период 2009–2013 гг.

Приведены статистические данные по количеству случаев и объемам загрязнения компонентов окружающей среды нефтью и нефтепродуктами, проведен анализ накопленной площади загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв.

Третья глава посвящена описанию программы, методики и объектов исследования.

Представлен алгоритм исследований (рисунок 1). Приводится описание камеральных и полевых исследований, проведенных в период с 2012 по 2015 годы, с описанием методов, объемов, периодичности анализа почвенных образцов и характеристикой объектов исследований. Представлена методика определения токсичности нефтезагрязненных почв на различные тест-культуры, проведенная в период с 2013 по 2014 гг. Описаны проведенные в 2015 году лабораторные исследования, в рамках которых определялись сорбционная емкость и поглотительная способность, а также основные методы количественного химического и микробиологического анализа численности и разнообразия образцов почв, использованных в работе. Представлены характеристики использованных в исследованиях инструментов и оборудования.

Объектами исследования явились:

1. Нефть марки *Urals (Siberian Light)*, добываемая на Когалымском месторождении УФО;
2. Образцы характерной для климатических условий УФО дерново-подзолистой почвы с различной степенью загрязнения нефтью и нефтепродуктами;
3. Временные пробные площади, расположенные в Свердловской области, 2,5 км юго-восточнее г. Реж, на дерново-подзолистой почве (реакция почв кислая, кислотность уменьшается от верхних горизонтов к породе (pH=4,0-4,2); содержание гумуса варьирует в зависимости от горизонта от 3,6 до 0,5 %, при этом гумусовый горизонт более насыщен обменными основаниями; почвы обладают отчетливой элювиально-иллювиальной дифференциацией по гранулометрическому и валовому составу).
4. Органические структурообразующие субстраты и сорбенты, представленные опилом сосновым, торфом, мхом сфагнумом (*Sphagnum L.*), мхом канадским торфяным (*Canadian Sphagnum Peat moss - Spill Sorb*), сорбирующим материалом «*Megacorb*».
5. Тест-культуры, представленные клевером луговым (*Trifolium pratense L.*), овсом посевным (*Avena sativa L.*), горчицей обыкновенной (*Brassica nigra L.*).



Рисунок 1 – Алгоритм исследований

В четвертой главе приведены результаты исследований, глава посвящена разработке способов очистки нефтезагрязненных почв с использованием метода биоремедиации и оценке эффективности их применения.

В п. 4.1.1. представлены результаты исследований, рассматривающих интенсификацию процессов деградации нефти и нефтепродуктов с помощью внесения структурообразующих субстратов в загрязненные почвы и последующего посева семян горчицы обыкновенной (*Brassica nigra* L.).

Для оценки эффективности снижения концентрации нефтепродуктов в зависимости от развития микрофлоры почв в период 2013-2014 гг. проводились камеральные исследования на базе лаборатории «мониторинга окружающей среды» Уральского государственного университета путей сообщения. В качестве субстратов использовались: опил сосновый фракции 2-10 мм, торф и мох сфагнум, в качестве фитомелиоранта – горчица обыкновенная (*Brassica nigra* L.). Объем субстратов составлял 10 % почв. Исследования выполнялись с почвами, загрязненными сырой нефтью при моделировании аварийных разливов в объемах 5 л и 10 л на м². Остаточное содержание нефти определялось в пробах почвы в течение всего периода наблюдений. Все опыты и измерения производились в трехкратной повторности.

В результате исследований в слабозагрязненных почвах (5 л на 1 м²) с добавлением структурообразующих субстратов достигнуто снижение концентрации нефтепродуктов в представленных вариантах до 61 % от первоначального.

В сильнозагрязненных почвах, загрязненных в расчете 10 л на 1 м², достигнуты аналогичные положительные результаты очистки почв от углеводородов нефти, при этом максимальный эффект очистки составил 59 % в образце с добавлением опила соснового (рисунок 2).

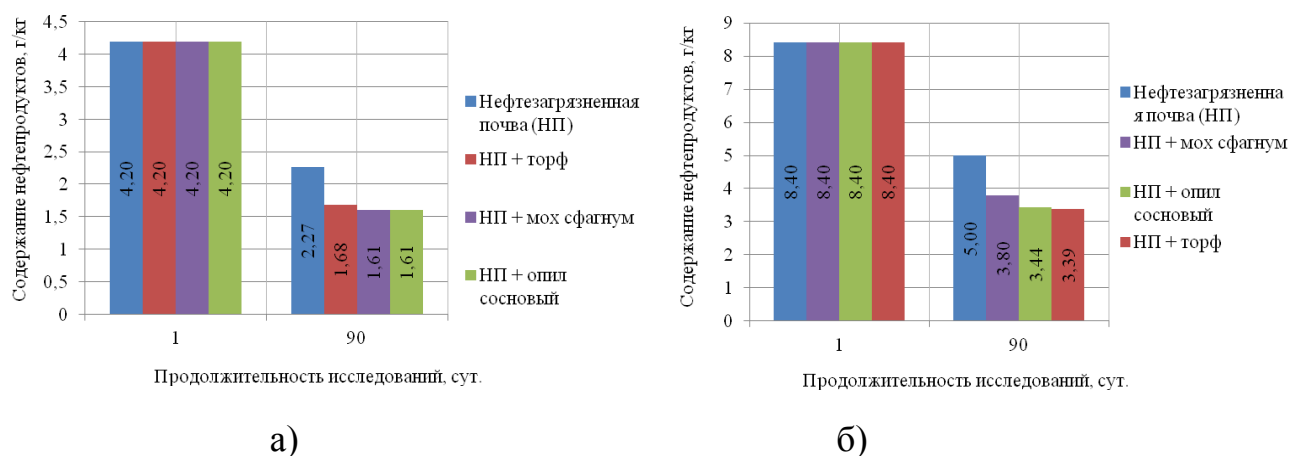


Рисунок 2 – Зависимость остаточного содержания нефти в образцах почв от времени деструкции: а) в слабозагрязненных; б) в сильнозагрязненных

Динамика снижения концентрации углеводородов нефти в почвах во времени с исходной концентрацией до 4 г/кг описывается уравнением 1, с исходной концентрацией до 8 г/кг – уравнением 2:

$$C_t = -0,312 \ln(t) + 2,1674, R^2 = 0,8555 \quad (1)$$

$$C_t = -0,609 \ln(t) + 4,3448, R^2 = 0,9575 \quad (2)$$

где: C_t – концентрация нефтепродуктов в почвах в зависимости от времени, г/кг; t – время, месяц; R^2 – величина достоверности аппроксимации.

Время выращивания горчицы обыкновенной (*Brassica nigra* L.) от момента посева в образцы загрязненных нефтепродуктами почв до окончания исследований составило 15 суток, к окончанию исследований

содержание остаточной нефти в образцах составляло: 29,5 % в слабозагрязненных почвах, в сильнозагрязненных – 37 %.

Полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что включение органических структурообразующих субстратов в состав загрязненных нефтью почв при поддержании определенного водного и воздушного режима позволяет добиться высоких уровней деструкции нефтяного загрязнения, вследствие активизации жизнедеятельности аборигенной почвенной микрофлоры, а последующий посев растений создает более благоприятные условия для их жизнедеятельности, что значительно ускоряет процесс деструкции.

В п. 4.1.2 представлены результаты полевых исследований интенсификации деструкции нефти и нефтепродуктов с помощью внедрения структурообразующих субстратов в загрязненные почвы.

Полевой этап исследований проводился на временной пробной площади в 2014 году. В качестве органического субстрата использовался опил сосновый в количестве 100 мл на 1 кг почвы, который вносился через сутки после загрязнения. В рамках полевого этапа работ исследовалась почва, загрязненная нефтью в соотношении: 5 л на 1 м² почв и 10 л на 1 м² почв. В зависимости от варианта опыта в почву вносился опил сосновый различной фракции: 1-3 мм, 5-10 мм, 20-50 мм. Площадь каждого варианта составляла 30 см × 30 см (рисунок 3). Остаточное содержание нефти определялось в пробах почвы в течение всего периода наблюдения с трехкратной повторностью.



Рисунок 3 – Временные пробные площади модельных полевых экспериментов

При загрязнении почвы нефтью в количестве 5 и 10 л/м² содержание нефти в поверхностном горизонте почвы 0-20 см через 1 сутки составляло 19,51±0,43 и 64,79±0,50 г/кг соответственно. К концу вегетационного периода (3 месяца) содержание нефти снизилось относительно исходных значений на 72 % и 63 % соответственно. При этом степень самоочищения почв в контрольном варианте с проведением агротехнических мероприятий – аэрация и увлажнение, достигла лишь 38 % и 49 % соответственно (рисунок 4).

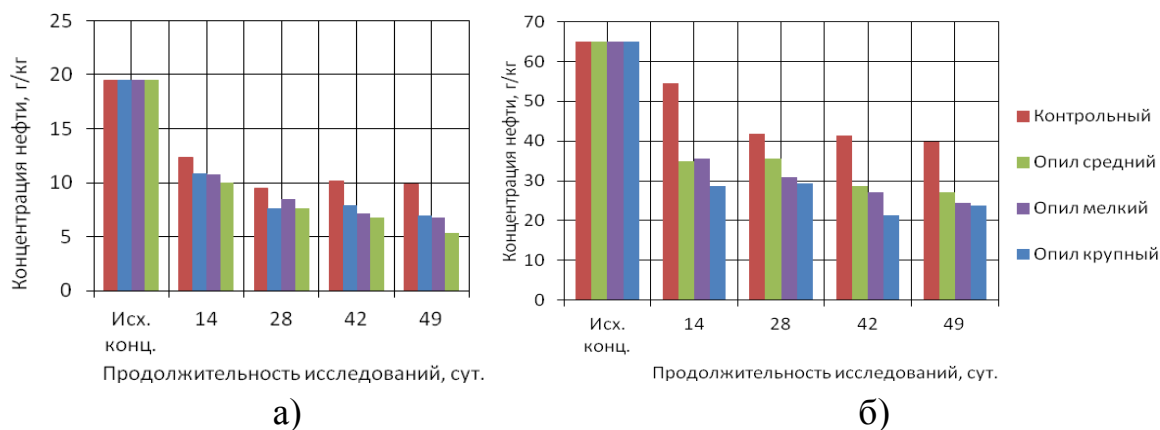


Рисунок 4 – Зависимость остаточного содержания нефти в образцах почв от времени деструкции: а) в слабозагрязненных; б) в сильнозагрязненных

Динамика снижения концентрации углеводородов нефти в почвах во времени с исходной концентрацией до 4 и до 8 г/кг описывается уравнениями 3 и 4 соответственно, и представлена на рисунке 5:

$$C_t = -6,408 \ln(t) + 18,365, R^2 = 0,9547 \quad (3)$$

$$C_t = -18,42 \ln(t) + 56,979, R^2 = 0,8531 \quad (4)$$

где: C_t – концентрация нефтепродуктов в почвах в зависимости от времени, г/кг; t – время, неделя; R^2 – величина достоверности аппроксимации.

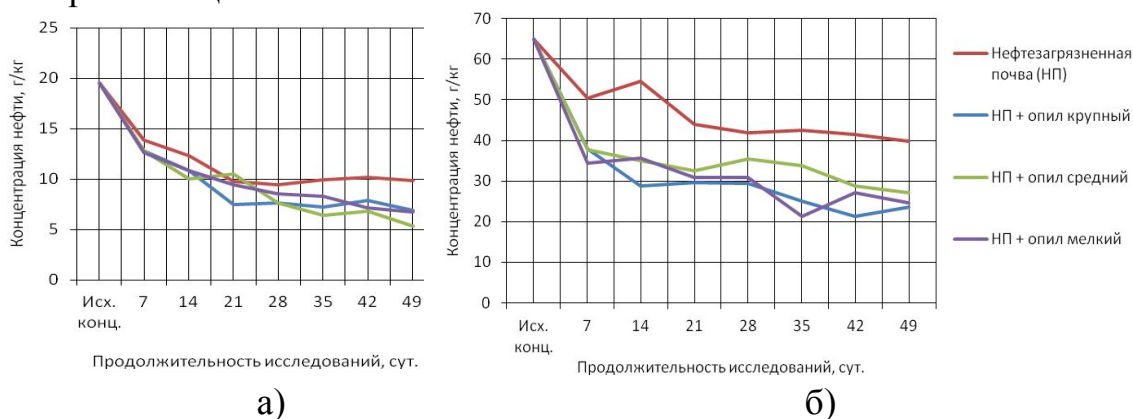


Рисунок 5 – Динамика снижения концентрации нефти в образцах почв во времени: а) в слабозагрязненных; б) в сильнозагрязненных

Проведение биологического этапа рекультивации методом биостимуляции способствует снижению содержания нефти в загрязненных почвах до 72 % при уровне загрязнения 5л на 1м² и 63 % при 10л на 1м². В вариантах без внедрения в почвы органических структурообразующих субстратов процессы самовосстановления замедлены, содержание нефти к концу периода исследований превышало достигнутый уровень в 1,85 раза в слабозагрязненном варианте и в 1,68 раза в сильнозагрязненном соответственно.

Следует отметить, что при данных уровнях загрязнения почвы нефтью, основной её объем удерживался в верхних слоях почвы. Так, в контрольных образцах без применения агротехнических мероприятий уровень

загрязнения на конец периода проведения опыта напрямую зависел от глубины слоя почвы (рисунок 6).

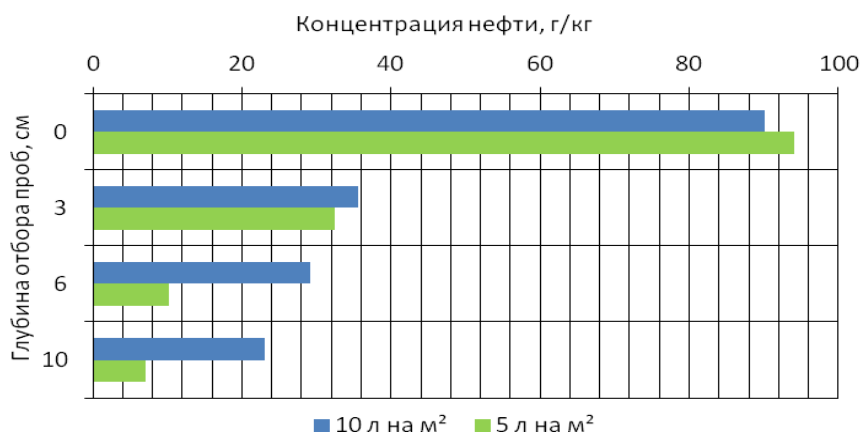


Рисунок 6 – Остаточная концентрация углеводородов нефти в почве в контрольном варианте

Таким образом, по результатам исследований установлено, что внедрение в нефтезагрязненную почву опила соснового положительно сказывается на её очищении в процессе биологической деструкции углеводородов нефти, что подтверждает возможность применения органических компонентов отходов лесозаготовительной промышленности для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

В п. 4.1.3 представлены результаты исследований токсичности нефтезагрязненных почв для различных растений, характерных для УФО.

В рамках исследований проводилась оценка прямого токсического воздействия различных концентраций нефти на произрастание семян и анатомо-морфометрические характеристики растений, произрастающих на загрязненных почвах.

Достоверность данных биотестирования обеспечивалась выращиванием тест-культур в равных условиях. Для исследований подбирались сосуды из инертного нетоксичного материала, одинаковой цветовой гаммы, емкостью 5 литров и вмещающие 4 кг почвы. В каждый из сосудов с равномерным распределением по поверхности производилась посадка семян тест-культур в количестве 200 шт. Тест-культуры выращивались при одинаковых внешних факторах воздействия: освещенность, приближенная к реальным условиям; влажность почвы, поддерживаемая на уровне 60 % полной влагоемкости; температура, поддерживаемая на уровне 18-25 °С. Полив производился в одно и то же время и одинаковым объемом воды. Образцы почв предварительно загрязнялись сырой нефтью для получения установленных значений концентрации: 10 мл/кг и 20 мл/кг. Контрольные образцы применялись без загрязнения нефтью.

Результаты исследований по определению фитотоксичности почвы представлены на рисунке 7 и в таблице 1.



Рисунок 7 – Результаты исследований фитотоксичности нефтезагрязненных почв (с концентрацией нефти: 0, 10, 20 мл/кг – слева направо) с использованием тест-культур: а) клевер луговой (*Trifolium pratense* L.), б) овес посевной (*Avena sativa* L.), в) горчица обыкновенная (*Brassica nigra* L.)

Таблица 1 – Оценка токсического воздействия нефти на анатомо-морфометрические характеристики растений

Концентрация нефти, мл/кг	Клевер луговой (<i>Trifolium pratense</i> L.)	Овес посевной (<i>Avena sativa</i> L.)	Горчица обыкновенная (<i>Brassica nigra</i> L.)
Всхожесть, %			
0	30	110	12
10	36	169	8
20	15	161	2
Высота ростков, см			
0	18±3,0	47±5,0	18±2,0
10	8±1,0	33±3,0	10±1,0
20	6±0,5	27±2,0	4±0,3
Длина корней, см			
0	7±1,0	20±4,0	11±2,0
10	7±1,0	13±2,0	5±1,0
20	6±0,5	10±2,0	3±0,3
Биомасса, мг			
0	1,098	10,235	1,047
10	0,503	6,827	0,177
20	0,103	6,780	0,004

Полученные результаты исследований тест-культур, выращиваемых в камеральных условиях на нефтезагрязненной почве в течение 45 суток, свидетельствуют, что углеводороды нефти оказывают острое токсичное влияние на анатомо-морфометрические характеристики растений. При этом более высокие концентрации нефти в почвах вызывают усиление токсического влияния на произрастание растений.

В результате исследований выявлено, что наиболее устойчивым к нефтяному загрязнению по критерию всхожести семян из предложенных

растений является *Avena sativa* L. Количество взошедших семян в нефтезагрязненных почвах составило 80-85 % от их общего количества, при сравнительно небольшом значении тест-культур *Trifolium pratense* L. и *Brassica nigra* L., всхожесть семян, которых в среднем составила лишь 12 % и 3 % соответственно. Уменьшение длины ростков *Avena sativa* L. от нефтяного загрязнения равного 10 мл/кг составило 29 %, а при 20 мл/кг – 42 %. Тогда как в образцах с применением *Trifolium pratense* L. и *Brassica nigra* L., уменьшение составило порядка 50 % при 10 мл/кг, и 70 % при 20 мг/кг. Значение биомассы *Avena sativa* L. практически в 10 раз превышает значения биомассы других исследованных тест-культур.

Для расчета значения фитотоксичности почв (T_i) применялась формула, предложенная Л.П. Брагинским, преобразованная введением дополнительных критериев (формула 5), являющихся наиболее значимыми при определении фитотоксичности: длина ростков тест-культур, длина корней тест-культур, биомасса растений.

$$T = k_N \cdot \left(\frac{N_k - N_x}{N_k} \right) + k_L \cdot \left(\frac{L_k - L_x}{L_k} \right) + k_l \cdot \left(\frac{l_k - l_x}{l_k} \right) + k_M \cdot \left(\frac{M_k - M_x}{M_k} \right), \quad (5)$$

где: T – степень фитотоксичности, %, k_i – коэффициент значимости частного критерия, N_k – всхожесть тест-культур в контрольном образце, шт; N_x – всхожесть тест-культур в исследуемом образце, шт; L_k – длина ростков тест-культур в контрольном образце, см; L_x – длина ростков тест-культур в исследуемом образце, см; l_k – длина корней тест-культур в контрольном образце, см; l_x – длина корней тест-культур в исследуемом образце, см; M_k – биомасса тест-культур в контрольном образце к концу исследований, г; M_x – биомасса тест-культур в исследуемом образце к концу исследований, г.

В результате расчетов получены значения фитотоксичности для растений, при концентрациях нефти в почве 10 мл/кг и 20 мл/кг (рисунок 8).

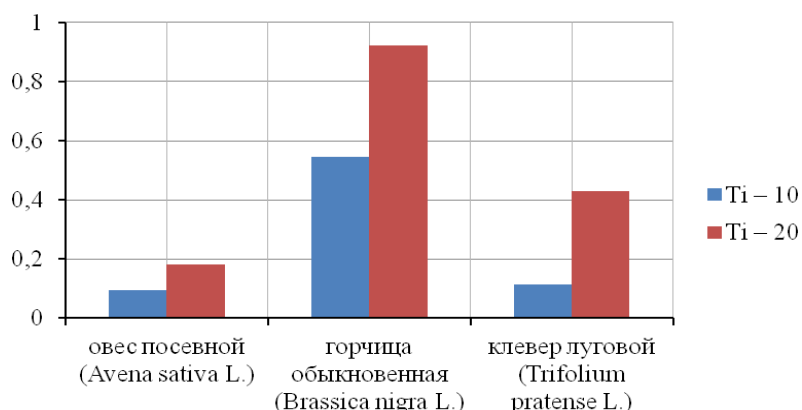


Рисунок 8 – Степень фитотоксичности нефтезагрязненных почв (T_i – фитотоксичность почв, загрязненных углеводородами нефти в соотношении 10 и 20 мл/кг)

Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют, что наиболее эффективным в качестве фитомелиоранта является *Avena sativa* L., который среди исследуемых тест-культур менее других подвержен токсическому воздействию нефти.

Посев семян *Avena sativa* L. на нефтезагрязненные, предварительно

рекультивированные участки позволяет создать благоприятный воздушный режим в почве, обеспечить почву органическим веществом за счет отмирающих клеток корней и выделения биоактивных веществ, способствующих росту ризосферных микроорганизмов и деградации углеводородов нефти. *Avena sativa L.*, показав наиболее высокие значения по выбранным критериям, является наиболее устойчивым к нефтяному загрязнению из всех представленных вариантов растений и наиболее приемлемым видом растения для использования его в целях рекультивации нефтезагрязненных почв.

В п. 4.1.4 представлен анализ микробиологических исследований образцов почв.

Этап микробиологических исследований, включающий в себя анализ численности углеводородокисляющих микроорганизмов, общей численности микроорганизмов, численности бактерий, принадлежащих к родам *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Sarcina*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, коринеморфных бактерий, актиномицетов и кокков, определение количества микроскопических грибов, а также расчет коэффициента разнообразия Симпсона, выполнен на базе аккредитованной лаборатории ФГБНУ «Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа».

В рамках исследований проанализированы образцы почв, подвергнутые загрязнению нефтью в соотношении: 5 л на 1 м² почв и 10 л на 1 м² почв.

Результаты микробиологических исследований и основных характеристик степени разнообразия почвенной микрофлоры анализируемых образцов представлены в таблицах 2 - 5.

Таблица 2 – Численность микроорганизмов на МПА (мясопептонный агар), N× 105КОЕ / 1г а.с.в. почвы

Образец	Общая численность	Из них:								
		<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus</i>	кокки	<i>Sarcina</i>	<i>Rhodococcus</i>	Коринеморфные	<i>Mycobacterium</i>	<i>Nocardia</i>	Актиномицеты
1	1055,2± 20,1	86,5	95,3	15,0	12,5	—	—	10,3	50,4	5,5
2	935,1±13,4	205,6	45,1	60,2	10,1	—	5,1	5,3	20,7	5,2
3	1170,0±11,2	51,3	25,4	185,4	—	—	5,2	45,6	20,4	5,7
4	1313,3±31,5	346,7	25,6	66,8	—	—	20,1	13,3	6,7	13,3
5	4850,9±45,1	935,4	44,9	215,3	—	—	25,4	30,8	—	15,4
6	825,4±9,4	91,7	22,1	90,8	10,4	10,2	26,1	90,5	11,3	6,1
7	1530,1±19,4	59,9	36,1	361,0	160,4	55,1	—	15,2	21,0	22,4

Таблица 3 – Численность углеводородокисляющих микроорганизмов на среде Мюнца, N × 10⁴ КОЕ / 1г а.с.в. почвы

Образец	Общая численность	Бактерии	Грибы
1	106,67±13,2	93,35	13,32
2	120,3±20,8	120,3	—
3	1050,3±66,7	1028,70	21,6
4	1173,30±41,7	1166,60	6,7
5	4060,07±125,8	3939,80	120,3
6	1760,21±74,8	1686,01	74,2
7	1393,22±50,2	1241,22	152,0

Таблица 4 – Численность микроскопических грибов на среде КГА (картофельно-глюкозный агар), $N \times 10^2$ КОЕ / 1г а.с.в.¹ почвы

Образец	Общая численность	Дрожжи	<i>Penicillium</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Acremonium</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Condelabrella</i> ²
1	200,0±12,4	13,1	120,0	13,3	—	6,6	20,0
2	293,3±19,7	44,4	13,3	106,6	6,8	—	—
3	506,8±41,6	46,6	46,7	60,0	13,2	—	86,7
4	180,0±12,1	26,7	31,9	87,1	—	—	20,0
5	326,7±21,8	46,7	46,6	173,3	6,7	—	—
6	286,6±31,7	80,0	26,7	73,3	13,3	—	6,7
7	560,0±59,7	226,7	80,0	86,7	20,0	—	—

1. а.с.в. почвы – абсолютно-сухой почвы; 2. Гриб, относящийся к роду так называемых «хищных грибов», питающихся микроскопическими нематодами.

Таблица 5 – Основные характеристики степени разнообразия микробного сообщества анализируемой почвы

Образец	Общая численность	Коэффициент Симпсона (для общей численности микроорганизмов)	Количество обнаруженных топов колоний (при учете на МПА)	Наличие/отсутствие доминант	Характеристика таксона доминанты
1	1055,2 ± 20,1	6,75	19	нет	—
2	935,1 ± 13,4	9,33	22	есть	<i>Pseudomonas</i> + др. неспорообразующие бактерии, формирующие желтопигментные колонии
3	1170,0 ± 11,2	53,76	23	нет	—
4	1313,3 ± 31,5	12,39	22	есть	<i>Pseudomonas</i> + др. неспорообразующие бактерии, формирующие желтопигментные колонии
5	4850,9 ± 45,1	39,68	21	есть	<i>Pseudomonas</i>
6	825,4 ± 9,4	32,68	29	нет	—
7	1530,1 ± 19,4	26,32	29	есть	кокки

Результаты исследований подтверждают, что наиболее благоприятные условия создаются при внедрении в состав почв органического субстрата (опила соснового) и посева на поверхность загрязненных почв семян растений, устойчивых к произрастанию на загрязненной почве. Резко выделяется образец № 5, подвергнутый 2 этапам очистки (в состав образца в 1-й год исследований вносился опил сосновый, во 2-й год исследований на поверхности образца был произведен посев семян *Avena sativa* L.), в котором значительно выше численность углеводородокисляющей почвенной микрофлоры.

В целом, результаты исследований подтверждают эффективность и возможность применения органических компонентов отходов лесозаготовительной промышленности и семян *Avena sativa* L. для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

В п. 4.1.5 приведены результаты лабораторных исследований, проведенных в 2015 году, в рамках которых определялись сорбционная емкость и поглотительная способность наиболее широко применяемых сорбентов и предлагаемых органических структурообразующих субстратов.

Сорбционная емкость исследуемых вариантов определялась путем насыщения всего их объема нефтью (таблица 6).

Таблица 6 – Сорбционная емкость исследуемых образцов

Вариант	Объем сорбента, мл	Время насыщения, сек	Сорбционная емкость, мл
Опил сосновый	50,0	8,6	25,9
Торф (<i>Turfa</i>)	50,0	7,9	15,1
Мох сфагнум (<i>Sphagnum L.</i>)	50,0	5,3	12,3
Мох канадский (<i>Miner's moss</i>) - Spill Sorb	50,0	7,1	30,2
Сорбирующий материал «Мегасорб»	50,0	9,7	5,7
Почва	50,0	8,0	15,1

Для определения поглотительной способности исследуемых вариантов, 1 мл каждого рассматриваемого варианта насыщался 1 мл нефти. В вариантах, насыщенных нефтью, при температуре 80 °С и прочих равных абиотических условиях определяли скорость испарения углеводородов нефти, при этом отдельно оценивались поглотительная способность легких и тяжелых фракций нефти, в зависимости от скорости улетучивания (рисунок 9).

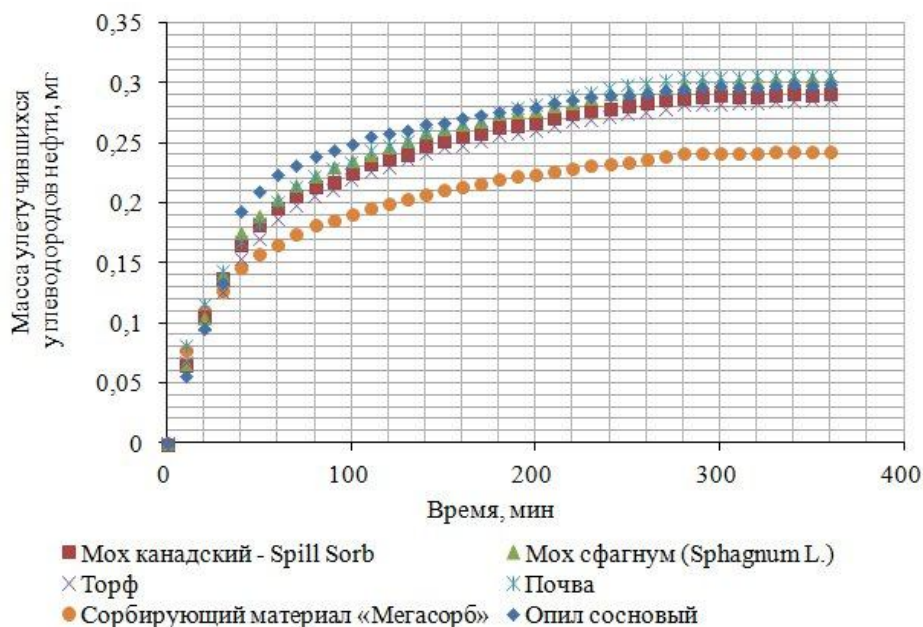


Рисунок 9 – Поглотительная способность сорбентов

Анализ поглотительной способности исследуемых вариантов, показал, что сорбирующий материал «Мегасорб» наиболее плотно связывается с углеводородами нефти, предотвращая испарение, как легких, так и тяжелых фракций, однако он имеет относительно низкую сорбционную емкость, что ограничивает его использование при аварийных разливах. Что касается органических структурообразующих субстратов, необходимо отметить, что более выраженную динамику испарения углеводородов нефти имеет вариант – опил сосновый, который слабо препятствует испарению легких фракций углеводородов нефти, однако хорошо связывается и задерживает на своей поверхности тяжелые фракции, в отличие от других вариантов.

Таким образом, внесение в состав загрязненных нефтью почв опила соснового, позволяет обеспечить сорбцию углеводородов нефти, и предотвратить миграцию нефтяного загрязнения, как на незагрязненные территории, так и в другие компоненты окружающей среды, что

подтверждает возможность использования предлагаемого способа очистки нефтезагрязненных почв.

В п. 4.1.6 представлены результаты исследования скорости и глубины проникновения нефти в почвенные горизонты дерново-подзолистой почвы УФО.

Для определения глубины проникновения нефти в почвенные горизонты дерново-подзолистой почвы УФО отбирались цельные образцы почвенного горизонта, которые без деформации перемещались в мерные цилиндры. Динамика и глубина проникновения нефти исследовалась в вариантах с 2 и 5 сантиметровым столбом нефти.

По результатам проведенных исследований установлено, что нефть проникает в почву до горизонта A_2 за 7 суток. В горизонте A_2 дерново-подзолистая почва имеет более плотную структуру, которая препятствует дальнейшему проникновению нефти в более глубокие горизонты. За 30-дневный период исследований проникновение нефти достигло глубины 15-16 см почвенного горизонта (рисунок 10).

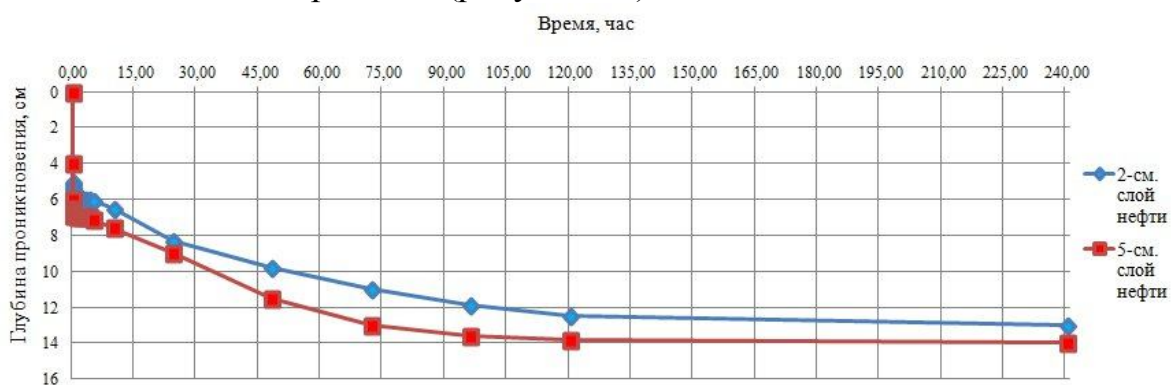


Рисунок 10 – Динамика и глубина проникновения нефти в почвенный горизонт

Таким образом, результаты исследований по определению скорости и максимальной глубины проникновения нефти в почвенный горизонт, подтверждают возможность использования предлагаемой схемы очистки нефтезагрязненных почв на месте аварийных разливов нефти и нефтепродуктов и не ограничивают сроки начала проведения работ с момента разлива нефти и нефтепродуктов.

В п. 4.2 приведена разработанная по результатам исследований технологическая схема рекультивации почв, основанная на использовании комплекса биологических методов очистки от загрязнения нефтью и нефтепродуктами (рисунок 11).

В пятой главе проведено исчисление размера возможного предотвращенного ущерба, причиненного почвам в результате проливов нефтепродуктов на исследуемой территории, который составил 50 717 836 100 (пятьдесят миллиардов семьсот семнадцать миллионов восемьсот тридцать шесть тысяч сто) рублей, а также рассчитана величина предотвращенного экологического ущерба окружающей среде в результате применения предлагаемого способа очистки нефтезагрязненных почв,

которая составляет 3 885 286 (три миллиона восемьсот восемьдесят пять тысяч двести восемьдесят шесть) рублей.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что применение предлагаемого способа очистки почв от нефтяного загрязнения, экономически выгодно с одной стороны, как возможное предотвращение накопленного ранее ущерба, причиненного почвам в результате химического загрязнения почв, а с другой стороны как предотвращение экологического ущерба, причиненного почвам в результате размещения отходов производства.



Рисунок 11 – Технология очистки почв от нефти и нефтепродуктов

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что внесение опила соснового в нефтезагрязненные почвы и дальнейший посев семян *Avena sativa* L. ускоряет процесс их очищения и способствует снижению содержания нефти в загрязненных почвах до 88 % при уровне загрязнения 5 л на 1 м² и 85 % при 10 л на 1 м². В образцах загрязненных нефтью в отношении 5 л на 1 м², и с начальной концентрацией углеводородов нефти 19,51±0,43 г/кг, установлено, что применение предлагаемого метода позволяет достигнуть снижения концентрации нефтепродуктов в почвах до 2,2 г/кг, что является безопасным уровнем содержания нефтепродуктов для исследуемого типа почв.

2. Установлено, что наиболее эффективным в качестве фитомелиоранта является *Avena sativa* L., который среди исследованных тест-культур менее других подвержен токсическому воздействию нефти и наиболее приспособлен к произрастанию на загрязненных нефтью почвах: количество взошедших семян в нефтезагрязненных почвах в варианте с *Avena sativa* L. более чем в 7 раз превышает значение в вариантах с *Trifolium pratense* L. и *Brassica nigra* L. и составляет 80-85 %, а значение биомассы *Avena sativa* L. к концу исследований практически в 10 раз превышает значения биомассы *Trifolium pratense* L. и *Brassica nigra* L.

3. Установлено, что появление в составе почв углеводородов нефти способствует увеличению углеводородоокисляющих микроорганизмов и грибов, а внедрение в состав загрязненных почв органических субстратов обеспечивает стабильное повышение их количества. Наиболее благоприятные условия создаются при внесении в состав почв опила соснового и последующего посева на поверхность загрязненных почв семян *Avena sativa* L., численность углеводородоокисляющих микроорганизмов в указанном варианте с уровнем загрязнения 19,51±0,43 г/кг в 38 раз превышает фоновую численность, и в 33 раза превышает численность в контрольном варианте.

4. Установлено, что внесение в состав нефтезагрязненных почв опила соснового, сорбционная емкость которого в 4,5 раза превышает сорбционную емкость широко распространенного сорбирующего материала «Мегасорб», позволяет обеспечить сорбцию углеводородов нефти и предотвратить их миграцию, при этом проникновение нефти вглубь почвенных горизонтов достигает глубины 15-16 см.

5. Разработан способ повышения эффективности биоремедиации нефтезагрязненных почв, включающий в себя технологическую схему, рекомендации и мероприятия, обеспечивающие очистку почв от углеводородов нефти до уровня ориентировочно допустимых концентраций (от 2 до 4 г/кг), который успешно апробирован при рекультивации нефтезагрязненных почв на территории Ханты-Мансийского автономного округа – Югра (ООО Производственная экологическая компания «Промышленная экология», г. Тюмень, Тюменская область).

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Шигапов А.М. Оценка влияния нефти и нефтепродуктов на состояние растительности по показателям фитотоксичности почв / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // Научный журнал «Системы. Методы. Технологии». – 2015. – № 3 (27) р. – С. 144-148.
2. Шигапов А.М. Перспективы использования биоиндикационных методов исследования при оценке фитотоксичности нефтезагрязненных почв / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // Научный журнал «Вестник КрасГАУ». – 2015. – № 10 (109). – С. 33-39.
3. Шигапов А.М. Проблема загрязнения почвенного покрова территории Уральского федерального округа углеводородами нефти / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/129-21616>.
4. Шигапов А.М. Оценка масштаба воздействия аварий при перевозке опасных грузов через густонаселенные районы / А.М. Шигапов, В.В. Бондаренко // Научно-практический и учебно-методический журнал «Безопасность жизнедеятельности». – 2014. – № 8 (164). – С. 45-49.

В других изданиях:

5. Шигапов А.М. Оценка накопленного ущерба от загрязнения почвенного покрова территории Уральского федерального округа углеводородами нефти / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // Сборник научных трудов Всероссийской Междисциплинарной молодежной научной конференции с международным участием: «V Информационная школа молодого ученого». ЦНБ УрО РАН, Екатеринбург, 2015. С. 394 – 400.
6. Шигапов А.М. Рекультивация загрязненных углеводородами нефти почв на территории Уральского федерального округа / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы, современное состояние, инновации в области природообустройства и строительства». Благовещенск, 2015, С. 186-192.
7. Шигапов А.М. Применение природных органических сорбентов при ликвидации аварийных разливов нефти и нефтепродуктов / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // Комплексные проблемы техносферной безопасности: материалы Междунар. науч. - практ. конф. Воронеж: ФГБОУ ВО «Воронежский государственный технический университет», 2015. Ч. IV. С. 150-155.
8. Шигапов А.М. Некоторые особенности биологических методов очистки почвогрунтов от загрязнения нефтепродуктами / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // Международный научно-исследовательский журнал. 2014. № 3-1 (22). С. 43-46.
9. Шигапов А.М. Перспективы использования аборигенной микрофлоры для борьбы с нефтяным загрязнением почв / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // Сборник научных трудов Всероссийской Междисциплинарной молодежной научной конференции с международным участием: «IV Информационная школа молодого ученого». ЦНБ УрО РАН, Екатеринбург, 2014. С. 326-333.
10. Шигапов А.М. Методы повышения скорости деструкции нефтяного загрязнения аборигенной микрофлорой / А.М. Шигапов // Материалы Всероссийской школы молодых ученых «Мы – за будущее!» (Биологические науки) – Ульяновск, УлГУ, 2014. С. 209-213.
11. Шигапов А.М. Биосферосовместимые технологии защиты окружающей среды от нефтепродуктов / А.М. Шигапов, В.В. Бондаренко // Материалы Всеросс. научн.- практ. конф.: Современное российское общество: проблемы развития. М.: ООО «Планета», 2013. С.235-242.

Отчет по государственной бюджетной НИР

12. Шигапов А.М. Защита ландшафтных систем от загрязнения углеводородами, поступающими с объектов железнодорожного транспорта / А.М. Шигапов, В.В. Бондаренко, И.И. Гаврилин, Е.Г. Емельянова, С.В. Малышева, Э.И.

Нагуманова, Э.А. Хусаинова – г. Екатеринбург, 2014, 114 с..

Патентная документация

13. Патент РФ № 2014135129/13 (056883), МПК 8 B09C1/00. Способ очистки почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами / Шигапов А.М., Гаврилин И.И.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО УрГУПС.

14. Патент РФ № 2015112553/13 (019670), МПК E02B15/04, E01H12/00 «Способ очистки поверхности открытых водоемов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами» / Шигапов А.М., Гаврилин И.И., Бондаренко В.В.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО УрГУПС.