



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра экологии и биоресурсов

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**  
(бакалаврская работа)

На тему Современные технологии ликвидации разливов нефти в условиях наземных экосистем

Исполнитель Корчагина Юлия Сергеевна  
(фамилия, имя, отчество)

Руководитель к.г.н., заведующий кафедрой экологии и биоресурсов  
(ученая степень, ученое звание)

Дроздов Владимир Владимирович  
(фамилия, имя, отчество)

«К защите допускаю»

Заведующий кафедрой

*В. Дроздов*

(подпись)

к.г.н., доцент

(ученая степень, ученое звание)

Дроздов Владимир Владимирович

(фамилия, имя, отчество)

«14» июля 2019 г.

## Содержание

Введение.....	3
Глава 1. Физико–географические особенности региона .....	6
Глава 2. Основные источники загрязнения нефтью наземных экосистем .....	9
Глава 3. Токсичность нефти и нефтепродуктов в почвенном слое .....	15
Глава 4. Результаты натурных исследований и применение технологий ликвидации нефтяных разливов .....	20
4.1 Отбор почвенных проб и постановка экспериментов .....	20
4.2 Биохимический анализ почвенных проб .....	22
4.3 Оценка и анализ полученных результатов .....	26
Заключение .....	36
Список использованных источников .....	39

## Введение

Нефть – это важнейшее полезное ископаемое в современном мире. Из нее могут производиться огромное количество материалов. Все топливо, включая бензин, керосин, различные смазочные масла являются производными нефти. Ее роль в нынешнем обществе значима для человека. Энергетика стран, весь транспорт, да и повседневные, ключевые потребности, которые помогают нам процветать и преуспевать, обеспечиваются за счет уникального сырья – нефти.

Ежегодно объем добычи нефти и нефтепродуктов увеличивается в разы. Следовательно, увеличивается транспортировка, переработка и места для хранения нефти. Все этапы нефтепользования прямо или косвенно негативно воздействуют на окружающую среду. Например, при хранении нефти во всевозможных резервуарах происходит испарение нефти или ее продуктов, а при транспортировке углеводородов случаются утечки.

Район исследования находится в Западной Сибири, а как известно, данная территория является основной нефтегазоносной областью России. Западная Сибирь, а именно, Ханты-Мансийский автономный округ-Югра достаточно сильно заболоченный округ, также он находится в условиях Крайнего Севера. Выше указанные факторы влияют на коррозию труб. Так как добыча нефти в данном регионе ведется давно, большинство трубопроводов, более 50%, изношены. Все это говорит о том, что происходят аварийные разливы нефти и нефтепродуктов. Так же как и объемы добычи, площадь нефтезагрязненных земель постоянно растет, что не может не пугать. Такие разливы и утечки встречаются не только на месторождениях или при транспортировке, но и на промысловых трубопроводах. Такие аварии возникают не только вследствие коррозии или негодности оборудования, но в результате человеческого фактора и неправильного проведения технических и монтажных работ.

Наносимый ущерб, как материальный, так и экологический измеряются в миллионах, а иногда и в миллиардах. Неблагоприятное воздействие таких разливов в том, что углеводороды нефти токсичны.

Под таким влиянием находятся почвы, животные и растительные сообщества, вода и атмосферный воздух.

В мире такому вопросу, как рекультивация нефтезагрязненных земель уделяется огромное внимание, также существуют разнообразнейшие препараты с дрожжами, бактериями и актиномицетами. Но проблема в том, что такие методы разрабатывались для ведения работ в благоприятном климате.

Актуальность данной темы заключается в разработке и дальнейшем использовании новых методов с микроводорослями для ликвидации нефтяных разливов. Технологий с использованием штаммов дрожжей или бактерий достаточно много, но нет технологий с микроводорослями. Это не правильно, так как микроводоросли по сравнению с бактериями менее прихотливы, живучи, хорошо культивируются и среда для их культивирования может быть нестерильной, а также срок хранения микроводорослей, а точнее их суспензий увеличен до 14-20 суток, тогда как суспензии бактерий хранятся максимум 7 суток.

Исходя из вышеуказанных причин, необходимо уделять больше внимания таким проблемам и совершенствовать методы ликвидации нефтяных разливов.

Целью выпускной квалификационной работы является разработка и оценка эффективности современных методов ликвидации нефтяных разливов в почве в районе города Лангепас.

Для достижения цели необходимо было достигнуть таких задач:

- Визуально оценить загрязненный участок
- Описать физико-географические особенности региона
- Отобрать пробы до постановки эксперимента, через 3 и 60 суток
- Поставить эксперименты с микроводорослями на нефтезагрязненном участке

- Провести биохимический анализ почвенных проб
- Дать оценку полученным результатам анализа

Особую благодарность хочу выразить своему научному руководителю, заведующему кафедры Экологии и биоресурсов, кандидату географических наук, доценту – Дроздову Владимиру Владимировичу, за оказанную помощь в написании настоящей выпускной квалификационной работы. Также хочется выразить свою признательность старшему научному сотруднику лаборатории биохимии и биотехнологий Института биологии Коми НЦ УрО РАН, кандидату биологических наук – Щемелининой Татьяне Николаевне, за помощь в планировании исследований, проведении биохимических анализов и консультировании на протяжении всего периода написания данной работы. Хотелось бы поблагодарить всех сотрудников ООО «ЭкоАльянс», за помощь в отборе проб, постановке экспериментов и за успешно пройденную производственную практику.

## Глава 1. Физико–географические особенности региона

Все полевые исследования проводились близ города Лангепас, который расположен в Ханты-Мансийском автономном округе-Югре.

Участок со свежим нефтяным загрязнением находится в 28,3 километрах от города Лангепас и в 7,6 километрах от цеха добычи нефти и газа № 6. Территория местами заболочена и можно наблюдать множественные фрагменты высачивания нефти. Участок располагается прямо вдоль дороги. Ближайший населенный пункт – город Лангепас. (Карта Ханты-Мансийского автономного округа, с указанием города Лангепаса в Приложении А).

Данный автономный округ находится в пределах Западно-Сибирской равнины, а также восточных склонов Северного и Приполярного Урала. Площадь Ханты-Мансийского автономного округа-Югры равняется 534 800 км<sup>2</sup> [5].

Город Лангепас располагается между двумя крупными городами Ханты-Мансийского автономного округа-Югры, такими как Нижневартовск и Сургут. Градообразующим предприятием Лангепаса является ОАО ТПП «ЛУКОЙЛ-Лангепаснефтегаз». Вышеупомянутый регион считается районом крайнего Севера.

Крайняя северная точка Ханты-Мансийского автономного округа имеет координаты 65° 43' северной широты и 62° восточной долготы. Именно от этой точки автономного округа в 98 километрах находится Северный полярный круг.

ХМАО-Югра граничит с Ямало-Ненецким автономным округом, Республикой Коми, со Свердловской, Тюменской и Томской областями, и также с Красноярским краем. Гора Народная – самая высокая точка округа, её высота составляет 1895 метров.

Территория ХМАО-Югры – это часть Западно-Сибирской плиты.

Такая плита состоит из складчатого фундамента, промежуточного и осадочного чехла. Метаморфическими и магматическими породами сложен складчатый фундамент.

В промежуточном чехле существует два свода: Сургутский и Нижневартовский. Там открыты достаточно крупные скопления нефти. Породы-коллекторы имеют залежи нефти, а также газоконденсата. Богатейшие залежи нефти содержатся в верхних пластах.

Такие отложения содержат примерно 30 триллионов тонн углеводородов [5].

Территория Среднего Приобья характеризуется, в основном, равнинным рельефом. Север и северо-запад Ханты-Мансийского автономного округа отличаются древним рельефом, высоты которого превышают 100 метров. (Карта с указанием орографических районов ХМАО-Югры представлена в Приложении Б).

Значимым полезным ископаемым ХМАО-Югры является нефть. На территорию автономного округа приходится половина ресурсного потенциала России. Большая часть нефтяных залежей на месторождения Ханты-Мансийского автономного округа отличается маловязкостью нефти. А это значит, что такую нефть удобнее добывать, как с технической стороны, так и с экономической.

Климат Ханты-Мансийского автономного округа-Югры, в большинстве своем, умеренно-континентальный.

Зимой 2016 года, температура в ноябре достигала  $-44^{\circ}\text{C}$ , а в декабре до  $-53^{\circ}\text{C}$ . Самая низкая температура была зафиксирована 21 декабря. Январь 2017 года был холоднее обычного. Температура в данном месяце была на  $1-2^{\circ}\text{C}$  ниже нормы. (Карта средних суточных температур ниже  $0^{\circ}\text{C}$  – Приложение В).

Максимальная температура весной 2017 года, в частности, в апреле достигала  $+20^{\circ}\text{C}$  и до  $+27^{\circ}\text{C}$  в мае. Март был аномально теплым. Средняя температура на  $5-9^{\circ}\text{C}$  была выше нормы. Осадки данной весной выпадали достаточно часто, до двух месячных норм.

Лето, то есть с июня по август 2017 года, было теплым. Максимальная температура наблюдалась в июне и составляла +34°C. (Продолжительность солнечного сияния представлена в виде карты в Приложении Г).

Осенью наблюдались температурные скачки. В сентябре и октябре температура была на 3°C ниже нормы.

Дожди наблюдались достаточно часто. (Карта с количеством осадков представлена в Приложении Д). Снежный покров образовался 21–22 октября [24].

ХМАО-Югра является одним из самых заболоченным регионом России. Болота занимают более 20 тысяч гектар, а это 40% территории автономного округа.

Северная часть Уральского хребта и его предгорья характеризуются редколесьями из лиственницы и березы. Также распространены ель и кедр. В горно-тундровом высотном поясе выделяются полосы кустарниковых, травяно-моховых и лишайниковых тундр.

Западно-Сибирская равнина представлена лесами из лиственницы, ели, кедра, березы и сосны. Массово представлены кустарнички, включая багульник, голубику и бруснику.

Поймы крупных рек, таких как Обь и Иртыш представлены болотными, луговыми и лесными сообществами. Для болот данной территории характерно чередование лесных и болотных ландшафтов.

В Ханты-Мансийском автономном округе-Юрге идентифицировано более 270 видов растений, 148 видов лекарственных, из них 66 видов использует реальная медицина [5].

В округе существует более 310 видов позвоночных, включая 4 вида амфибий, 2 вида рептилий, 250 видов птиц и 60 видов млекопитающих[7].

Ихтиофауна бассейна рек Обь и Иртыш представлена такими распространёнными видами, как нельма, налим, лещ, судак, таймень и карась.

## Глава 2. Основные источники загрязнения нефтью наземных экосистем

Ценное сырьё, такое как нефть и ее продукты, когда разливаются в слои почвы, представляют бесчисленное множество угроз для природной среды и человека. Каждый этап использования нефти и нефтепродуктов, начиная с разведки заканчивая её переработкой, наносит губительный, а иногда и необратимый вред биосфере. Из этого следует, что на любом этапе нефтепользования существуют потенциальные источники загрязнения окружающей среды.

Самые распространенные источники загрязнения почв – различные виды транспорта, нефтяные предприятия, включая нефтяные хранилища, нефтеперерабатывающие заводы, в добавок к этому, транспортировка нефти и нефтепродуктов.

На промыслах нагрузки связаны с различными техническими компонентами: скважины, магистральные и промысловые нефтепроводы, амбары, резервуары и отстойники.

На этапе обустройства нефтяной промышленности возводятся определенные технические объекты, такие как очистные сооружения, полигоны, карьеры, бурятся скважины. При нормальном режиме эксплуатации таких объектов проводятся испытания и исследования скважин, производится их ремонт. Дожимные насосные станции и пункты сбора и подготовки нефти также находятся под наблюдением. На тех же самых полигонах производится складирование и захоронение отходов, которые появляются в результате нефтепользования. Но уже при аварийном режиме происходят разливы нефти и нефтепродуктов, буровых и пластовых жидкостей, фонтанирование скважин [20]. Даже если такие объекты находятся изолированно друг от друга или не выходят за пределы нефтяного промысла, они все равно несут существенную нагрузку на наземные экосистемы.

Они являются источниками нефтяного загрязнения территории. В этом плане они различаются по составу и объемам выбрасываемого вещества в биосферу.

Проблема таких промышленных объектов еще заключается в том, что они вызывают нагрузку не только в плане выбрасываемых веществ, но и вызывают изменения в ландшафтах. В результате на значительных площадях возникают множественные неблагоприятные ситуации, в экологическом плане. В конечном итоге, из-за разливов нефти изменяется режим нормального функционирования микроорганизмов, да и всех систем в общем. Также разрушаются компоненты окружающего мира, и естественно, происходит загрязнение техногенными потоками, разными по объему. [19]

Но к основным источникам относятся нефтепроводы, по которым перекачивают сырье. На территории ХМАО-Югры в пользовании находится 109,8 тысяч километров нефтепроводов, в том числе 16 тысяч километров магистральных нефтяных трубопроводов [23].

Общая протяженность трубопроводов, которые приходятся на ПАО «ЛУКОЙЛ» составляет 44157 километров, из них 46% на ООО «ЛУКОЙЛ-Западная Сибирь» [2].

Значительная часть аварийных ситуаций происходит в результате коррозии труб. Такая коррозия вызвана тем, что большая часть территории района города Лангепас достаточно сильно заболочена, а сам город относится к территориям Крайнего Севера. В связи с этим, трубопроводы подвергаются дополнительным воздействиям, это могут быть различные мерзлотные явления, просадки или смещение грунтов.

До 44,5% аварий трубопроводов приходится на подземную коррозию. До 25% аварий случаются по причине строительного-монтажных работ. Около 10% аварий наблюдается, вследствие дефекта труб [14].

Такие аварии могут происходить также по причине изношенности оборудования, в частности, трубопроводов.

Даже несмотря на специальные меры по защите от коррозии, безаварийный период трубопровода составляет примерно 10 лет [16]. В действительности, более 50% труб находятся в эксплуатации более 30 лет.

В холодные времена года, количество аварий возрастает в разы, в отличие от теплых времен. Это объясняется различными мерзлотными явлениями, а также снеговым давлением. Именно давление снега является, в некоторых случаях, разрывом труб.

Наравне с нефтепроводами, работающие скважины являются источником разливов нефти. На этапах бурения скважин, буровые растворы попадают в почву. Такие промывные жидкости представляют особую опасность, так как их составляющая – это не только нефтепродукты, но и кислоты, к примеру, соляная, а также нерастворимые минералы. Кроме того, на стадии бурения скважин образуются буровые сточные воды. В таких сточных водах имеются поверхностно-активные вещества и различные реагенты и достаточно много нефтепродуктов.

В одной пробе таких сточных вод содержится 9000 мг/л органических веществ, включая 8000 мг/л нефтепродуктов [17].

Нефтяные потоки загрязняют не только почву, но и грунтовые воды. При этом загрязняются большие территории.

Делая вывод из выше сказанного, можно сказать, что буровые шламы очень токсичны. Они могут иметь такие негативные последствия как, накопление углеводов в тканях растений, нарушение физических и химических свойств почв, гибели живых организмов и отравляющее воздействие на человека [6].

При таких разливах буровых шламов совместно с нефтью и нефтепродуктами происходит остановка скважин, работы по ликвидации последствий аварий, разнообразные работы в местах нефтепользования, что создает не только глобальную экологическую проблему, но и экономическую.

Хранение нефти осуществляется при помощи специальных резервуаров. Они также предназначены для сбора нефти и нефтепродуктов.

Именно такие резервуары можно считать еще одним источником загрязнения нефтью. Резервуары представляют собой вертикальные, горизонтальные и сферические хранилища из стали.

Утечка, а следовательно и разливы нефти и нефтепродуктов случаются из-за плохой герметичности или при нарушениях при установки перекачивающих устройств [4].

Немаловажно и то, что на местах разливов нефти и нефтепродуктов и при их хранении происходит испарение нефти и ее продуктов. При испарении основными загрязнителями могут быть либо аммиак, либо этилен или ацетилен [3].

Очень важно незамедлительно ликвидировать нефтяные загрязнения. Сейчас, самым распространённым способом удаления загрязнений является биологическая рекультивация, то есть внесение бактерий, дрожжей и микромицетов. Но раньше достаточно часто использовалось, например, проливание песком, так называемый метод пескования. Суть данного метода заключалась в засыпке слоя почвы, загрязненного нефтью. Проблема заключалась в том, что песок явно тормозил все процессы разложения нефти, а именно мешал доступу кислорода. Впоследствии проведенный анализ показывал, что на глубине более 70 сантиметров содержание нефтепродуктов было превышено в несколько раз, по сравнению с региональным фоном. Создаваемые методом пескования, песочные пустыни не были пригодны для выращивания, к примеру, леса.

Так же, не так давно, применялся метод отжига разлившейся нефти. По прошествии 6 лет на таком участке не только не наблюдалось никакого снижения содержания нефтепродуктов, но и не было никакого развития растительности. Данный способ чрезвычайно рискованный и угрожающий не только наземным экосистемам.

С годами начали применять достаточно действенный способ рекультивации нарушенных земель – комплексный метод.

Он совмещает в себе технический этап рекультивации и биологический. Во время технической стадии настоящего метода собираются нефтепродукты в поверхности почвенного слоя и вывозятся на специализированные полигоны. При этом, ничего не выжигается и грунт не засыпают песком или торфом [10]. Последующая стадия подразумевает внесение биологических препаратов и посев трав, которые способны всходить в определенных климатических условиях. Для Ханты-Мансийского автономного округа, в основном, используются тимофеевка и ежа.

На исследуемом участке, источником загрязнения, то есть нефтяного разлива, является промысловый нефтепровод. На участке применялся также биологический метод рекультивации, но уже с использованием микроводорослей, а не бактерий или дрожжей.

Исследуемый участок с координатами 61°25'42.5"N 75°28'23.5", под названием ДНС-13-ДНС-2 ЦДНГ № 6 находится вдоль дороги «Лангепас-Покачи» в 28 километрах от города Лангепас и в 7 километрах от цеха добычи нефти газа № 6. Опубликование в открытой печати таких данных, как координаты загрязненного участка и его название, было согласовано с начальником отдела охраны окружающей среды ООО «ЛУКОЙЛ – Западная Сибирь» А. В. Безденежных. (Данное разрешение представлено в Приложении Е) Территория участка местами заболочена, а сам разлив свежий. Площадь загрязненного участка 4 га.

В первый день, а именно перед постановкой экспериментов 07.07.2018года, было отобрано 11 проб:

- 2 пробы – фоновое значение с горизонта 0-5 см и с горизонта 5-50 см;
- 1 проба – охранная зона;
- 1 объединенная проба с участка М2000 (20×20 метров);
- 7 проб с участков М1-1 – М1-7К (1×1 метр).

Погода при взятии проб была ясная, температура воздуха составляла 22°С, ветер южный со скоростью 3 м/с, атмосферное давление 752 мм. рт. ст.

В этот же день, после отбора почвенных проб, были заложены 3 эксперимента. (Процесс отбора проб можно видеть в Приложении Ж).

Через 3 суток (11.07.2018) были отобраны 8 проб:

- 1 объединенная проба с участка М2000 (20×20 метров);
- 7 проб с участков М1-1 – М1-7К (1×1 метр).

Через 60 суток (12.09.2018) также было отобрано 8 проб.

### Глава 3. Токсичность нефти и нефтепродуктов в почвенном слое

Негативное воздействие нефти и ее продуктов на окружающую среду в целом доказано уже давно. Частые разливы и утечки нефти требуют быстрого и качественного устранения в самые короткие сроки, так как нефть обладает таким опасным свойством, как токсичность. На данный момент, это наболевшая проблема.

В состав нефти входят различные кислоты, альдегиды, спирты и эфиры. Они, в основном оказывают токсическое действие на окружающую среду [1].

Низкие температуры, излишняя обводненность территорий и высокое содержание нефти затрудняют её разложение. Содержание, к примеру, соляной кислоты более 3% приводит к деградации растительности. В верхних слоях торфа содержание кислот может достигать 20%.

При попадании в почву таких поллютантов, как нефть и нефтепродукты даже при не высоких концентрациях начинается угнетение растительных сообществ, нарушается функционирование почвенных микроорганизмов, наблюдается попадание нефти в грунтовые воды, а это опасно не только для организмов, но и для человека.

Согласно ГОСТу Р 51858-2002 очень высокий уровень загрязнения характеризуется содержанием нефтепродуктов в почве в количестве более 50000 мг/кг, тогда как фоновый от 100 до 500 мг/кг [8]. На исследуемом участке в районе города Лангепас содержание нефтепродуктов, до постановки всех экспериментов, составляет 89000 мг/кг.

В Западной Сибири, где находится объект исследования, в современное время, основным загрязняющим веществом является нефть.

Несмотря на то, что растения являются природным компонентом очистки наземных экосистем, они достаточно сильно чувствительны к этому поллютанту, особенно когда почва чрезвычайно загрязнена.

Опасность нефтепродуктов для растений заключается в том, что они препятствуют впитыванию и сохранению воды в почве, также нарушается воздушный режим почв. Попавшая в почву нефть мешает легкой доступности важнейших минеральных элементов для растений – азот, калий и фосфор. А это отражается на микроорганизмах, которые участвуют в круговороте азота. Почва имеет свойство самоочищаться, но из-за нефтяного загрязнения такой процесс сильно замедляется. В связи с этим, период восстановления растительного мира может достигать 20 лет [12].

Также известно, что у растений, произрастающих на нефтезагрязненных почвах наблюдаются отклонения, такие как появление гигантских форм, нарушение пропорций или возникновение наростов [13].

На почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами отмечается полное отсутствие прорастания 35% семян. А гибель растений после прорастания оставшихся семян наступает после 10-15 дней [9].

Так как большая часть Ханты-Мансийского автономного округа заболочена, из-за нефтяных загрязнений наблюдаются нарушения болотных экосистем. Сильнейшее негативное воздействие, в большинстве своем, испытывают верховые болота, так как именно такие болота находятся в большем количестве в Западной Сибири, где находятся огромная часть нефтезагрязненных земель России. Опасность заключается в том, что торфяные почвы обладают чрезвычайно высокой нефтеёмкостью. Содержание нефтепродуктов в торфе может достигать 70-80%. Такая особенность торфа объясняется его высокой влажностью и глубиной залегания. Высокая токсичность нефтепродуктов вызывает усадку торфа. Тем самым образуются топи, вследствие разрыва грунта. Проблема и в том, что водоносный горизонт запомнен водно-нефтяной эмульсией. При интенсивном разливе загрязняется вся поверхность болота, не только пониженные формы рельефа [18].

Площадь низинных болот значительно ниже, чем верховых. Такие болота имеют малую нефтеёмкость, они имеют повышенную способность к самоочищению и биологическую активность.

Если загрязнение сильное, то на поверхности таких болот формируется битуминозная корка, которая препятствует дальнейшему проникновению в почву нефтяных углеводородов.

Без всякого сомнения, в эпицентре разлива нефти или нефтепродуктов на поверхности болота гибнет вся растительность. Постройка амбаров, бурение скважин и разливы нефти серьезно нарушают торфяной горизонт. На таких нарушенных территориях наблюдается пятнистый характер растительности.

Если загрязнение нефтепродуктами умеренное, то есть содержание нефти 1000-5000 мг/кг, и проведена успешная рекультивация, наблюдается постепенное восстановление болотной местности.

Случалось и такое, что разливы нефти сжигаются прямо на месте, и сила их воздействия становится катастрофической. На месте таких разливов образуется корка, так как выгорает весь верхний горизонт торфа, и в связи с этим, новые семена не могут проникнуть в почву, а следовательно и прорасти. Такие площади остаются полностью безжизненными [18].

Нефтяные разливы негативно воздействуют не только на растительность и болотные сообщества, но и на позвоночных животных. Данные разливы приводят к снижению численности или к полному исчезновению животного мира на загрязненных территориях. У животных, которые все таки остаются на неочищенных участках возникают нарушения с пищеварением, с репродуктивными функциями. Например, фракции нефтепродуктов попадают на оперение уток, которые высидывают кладки. Вследствие этого, такие частицы нефти попадают и на скорлупу яиц, тем самым проникая внутрь яиц, а это приводит к гибели эмбриона [21]. Где растительность полностью или частично отсутствует, наблюдается уменьшение всех видов позвоночных. Но также замечено и то, что при строительстве поселков вокруг нефтегазовых комплексов, приводит к значительному уменьшению численности видов животных. Следовательно, на уменьшение популяций животных влияют не только нефтяные разливы, но и весь нефтегазовый комплекс.

Кроме углеводов, в качестве загрязнителей, попадают в наземные экосистемы и поверхностно-активные вещества, которые служат для промывки емкостей от нефтепродуктов, и кислоты, и щелочи. Данные вещества очень опасны для человека.

Интересно то, что пары сырой нефти малоопасны и не являются токсичными. А вот пары бензина, к примеру, могут попадать в организм человека через дыхательные пути. Такие опасные пары, прежде всего, поражают центральную нервную систему и сердечно-сосудистую. Состояние отравления парами бензина похоже на алкогольное опьянение, но в некоторых случаях может быть смертельно для взрослых людей. Небольшая концентрация паров бензина для человека может почти не оказывать никакого эффекта, но для ребенка может закончиться летальным исходом.

Предельные углеводороды – еще один химически опасный нефтепродукт. Это так называемые растворители. Очень часто с ними человек сталкивается на производстве. В этом случае, опять же страдает нервная система.

Такие углеводороды опасны тем, что даже при низких концентрациях они плохо влияют на человека, вызывая зуд и пигментацию кожи.

Меркаптаны – достаточно высокотоксичные соединения, обнаруженные, в основном, на территориях нефтяных комплексах и нефтеперерабатывающих заводах. Их плюс для здоровья человека в том, что меркаптаны имеют неприятный запах, тем самым их легко обнаружить.

Самый часто встречающийся полиароматический углеводород – бенз(а)пирен. Такое органическое соединение способно приводить к образованию у человека опухоли, при этом провоцируя и онкологические заболевания.

Совершенно неустойчивы к токсичным поллютантам, такие как нефть и нефтепродукты, озерно-болотные сообщества, которые накапливают углеводороды в грунтовых и донных отложениях и не имеют геохимических барьеров. Следует еще раз отметить, что большая часть территории Ханты-Мансийского автономного округа заболочена.

Для устранения доли токсичности, в первую очередь, воспроизводится механическое удаление загрязненного слоя грунта, а именно вывоз, и вместе с тем, складирование на определенных полигонах. Также можно проводить запашку верхнего слоя загрязненной почвы в более глубокие слои. Механизм очистки таких загрязнений – это перераспределение загрязняющего вещества в почве.

Иногда проводится сжигание на месте, в процессе которого происходит термическое разложение, но такой способ опасен для окружающей среды, так как при сжигании происходит выделение агрессивных веществ.

Одним из видов технологий удаления загрязнителя является внесение сорбентов или химических осадителей, которые постепенно разлагают углеводороды нефти. Вдобавок к сорбентам вносят удобрения, для ускорения разложения токсичных органических соединений [15].

Внесение микроорганизмов, посредством биологических препаратов, наиболее эффективный метод ликвидации нефтяного загрязнения. Такие методы очистки почв наиболее безопасны для окружающей среды [22]. Принцип работы биопрепаратов основан на способности почвы самоочищаться, это так называемое лечение жизнью.

## Глава 4. Результаты натурных исследований и применение технологий ликвидации нефтяных разливов

### 4.1 Отбор почвенных проб и постановка экспериментов

Перед закладкой экспериментов были отобраны, так называемые нулевые пробы 07.07.2018 г, включая 2 фоновые почвенные пробы и 1 с охранной зоны.

Для отбора проб понадобились: лопаты, вешки, сигнальная лента, стикеры, фасовочные пакеты, маркеры, сантиметр, рулетка.

#### 1) Участок охранной зоны и фоновая проба.

Особенностью территории, на которой произошло нефтяное загрязнение, является чередование болотистой местности и лесных массивов. Исследуемая территория местами заболочена, но имеет богатую флору.

На участке отбора фоновой пробы почв преобладает береза и ель, а также многолетняя трава – пушица. Местами можно наблюдать лишайники.

Фоновая проба почвы отбиралась в 100м от автодороги и загрязненного участка, вне антропогенного воздействия, в лесном массиве, с горизонта 0-5 см и 5-50 см. (Процесс отбора проб с фонового участка представлен в Приложении И).

Погода в день взятия проб была слегка облачная, температура 25°C, ветер юго-восточный 1,4 м/с, атмосферное давление 753 мм. рт. ст., относительная влажность воздуха 64%.

Также была отобрана проба почвы с охранной зоны. Охранная зона устанавливается вдоль трассы нефтепровода.

В данном случае, охранная зона представляет собой участок земли, ограниченный условными линиями, проходящими в 25 м от оси нефтепровода с каждой стороны. Она выделена специальными знаками, территория охранной зоны засыпана песком.

## 2) Эксперимент «Гидропосев».

На участке в 4 га была выделена делянка 20 × 20 метров (400 м<sup>2</sup>) с помощью вешек и сигнальной ленты. На данной делянке было отобрано, до начала работ и постановки эксперимента, 1 объединенная проба методом «конверта», то есть у каждой вешки и в центре делянки. Все пробы характеризовались как избыточно увлажненные. Время начала отбора проб 9:52 по местному времени.

Для этого эксперимента, 19.06.2018 г., заранее на базе Института биологии Коми НЦ УрО РАН была приготовлена питательная среда Люка для культивирования микроводорослей в объеме 20 литров и засеяна штаммом микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPASC-2024. Условия культивирования: комнатная температура, освещение фитолампами, аэрация с помощью аквариумного насоса в течении 14 суток. На данный штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* V. Andr. для активизации биодеструкции нефтепродуктов в загрязненных почвах было подано заявление о выдаче патента Российской Федерации на изобретение. (Данное уведомление о поступлении и регистрации заявки представлено в Приложении К). (Уведомление о положительном результате формальной экспертизы заявки на изобретение представлено в Приложении Л). Уже на самом участке в бочке, объемом 200 литров, были смешаны ингредиенты: аммиачная селитра (24 кг); травосмесь – тимофеевка, ежа и кострец (10 кг); суспензия микроводорослей (20л). (Полевые работы, а именно процесс смешивания ингредиентов представлен в Приложение М).

С помощью мотопомпы производили гидропосев на загрязненную делянку размером 20 × 20 метров. Повторные почвенные пробы с участка эксперимента «Гидропосев» отбирали спустя 3 и 60 суток после постановки эксперимента.

## 3) Эксперимент «Микроводоросли».

На загрязненном участке, площадью 4 га, было выделено 7 делянок 1м×1м.

На данных делянках отбор проб так же осуществлялся методом «конверта», была составлена объединённая проба путем смешивания точечных проб, отобранных на одной делянке.

Для этого эксперимента, заранее, в бутылках объемом 0,5 литров были разведены удобрения NPK (азотно-фосфорно-калийные) по 12 г., а также культивированы микроводоросли *Chlorella vulgaris* IPPASC-2024 (90 мл) на синтетической среде Тамия. Перед проведением эксперимента были отобраны пробы почвы со всех делянок, то есть нулевые точки.

По схеме эксперимента на шесть участков вносили растворенные удобрения, для равномерного внесения использовали бытовой опрыскиватель, на 3 делянки из них вносили микроводоросли *Chlorella vulgaris* IPPASC-2024 по 30 мл на каждую (Таблица 4.1.1). 7 делянка (M1-7K) - контроль, на нее не вносили ничего, чтобы для дальнейших исследований отслеживать динамику. Повторные пробы с участков эксперимента «Микроводоросли» отобрали через 3 и 60 суток после постановки эксперимента. (Процесс внесения микроводорослей продемонстрирован в Приложении Н).

Таблица 4.1.1 – Схема эксперимента «Микроводоросли».

M1-1 (NPK)	M1-2 (NPK)	M1-3-(NPK)
M1-4 (Микроводоросли+NPK)	M1-5 (Микроводоросли+NPK)	M1-6 (Микроводоросли+NPK)
M1-7K - загрязненная, необработанная почва		

#### 4.2 Биохимический анализ почвенных проб

Количественный химический анализ почвенных образцов был выполнен в экоаналитической лаборатории Института биологии Коми НЦ УрО РАН, следующими методами: водородного показателя водной вытяжки рН(вод) – потенциометрией ГОСТ 26423-85, водородного показателя солевой вытяжки рН(сол.) – потенциометрией ГОСТ 26483-85, гидрокарбоната-иона в водной

вытяжке – потенциметрией, ГОСТ 26424-85, сухого остатка – гравиметрией, ГОСТ 26423-85, общего азота, N– газовой хроматографией (Методика № 88-17641-004-2016 (ФР.1.31.2016.23502), углерод (общее содержание), С - (Методика № 88-17641-004-2016 (ФР.1.31.2016.23502), фосфора (подвижные формы), в пересчете на P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – фотометрией, ГОСТ 54650-2011, калий (подвижные формы), в пересчете на K<sub>2</sub>O – пламенной фотометрией, ГОСТ Р 54650-2011, азот нитритный, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> - фотометрией, ПНД Ф 16.1:2.2:2.3.51-08, хлорид-иона водорастворимых соединений, Cl – меркуриметрией, методика измерений № 88-17641-005-2016 (ФР.1.31.2016.23500), сульфат-иона, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> - турбидиметрией, ГОСТ 26426-85, натрия в водной вытяжке - АЭС ИСП, ГОСТ 26427-85, калия в водной вытяжке, К (в.в.) - АЭС ИСП, ГОСТ 26427-85, кальция в водной вытяжке, Ca (в.в.) - АЭС ИСП, ГОСТ 26428-85, магния в водной вытяжке, Mg (в.в.) - АЭС ИСП, ГОСТ 26428-85, гидролитическую кислотность - потенциметрией, ГОСТ 26212-91, нефтепродукты, НП - флуориметрией, ПНД Ф 16.1:2.21-98 (ФР.1.31.2012.13170), полициклические ароматические углеводороды: нафталин, аценафтен, флуорен, фенантрен, антрацен, флуорантен, пирен, бенз[а]антрацен, хризен, бенз[б]флуорантен, бенз[к]флуорантен, бенз[а]пирен, дибенз[а,h]антрацен, бенз[g,h,i]перилен - ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием, ПНД Ф 16.1:2.2:2.3:3.62-09 (ФР.1.31.2009.06214), углеводороды (n-алканы), C<sub>13</sub> – C<sub>33</sub> – газовой хроматографией, Оригинальная методика измерений.

Для биохимических анализов за основу были взяты методы почвенной энзимологии [12].

Для оценки биогенного и антропогенного вклада n-алканов в процессе рекультивации в различных средах введен индекс CPI (carbon preference index). На основе полученных данных по распределению n-алканов рассчитывали индекс CPI:

$$CPI = 0.5 \times \left( \frac{\sum C_{25,27,29,31,33}}{\sum C_{24,26,28,30,32}} + \frac{\sum C_{25,27,29,31,33}}{\sum C_{26,28,30,32,34}} \right),$$

где  $CPI$  – соотношение алканов;  $\Sigma C_{25, 27, 29, 31, 33}$  – сумма нечетных алканов;  $\Sigma C_{26, 28, 30, 32, 34}$  – сумма четных алканов.

Процессы химического и биологического окисления индивидуальных ПАУ, протекающие в природных средах, имеют разную направленность.

Расчет индекса техногенности ПАУ (ИТ ПАУ) производили по формуле:

$$ИТ = \frac{(Pyr+Flu)}{(Chr+Fen)}$$

где  $ИТ$  – индекс техногенности,  $Pyr$  – пирен,  $Flu$  – флуорантен,  $Chr$  – хризен,  $Fen$  – фенан-трен.

Однако список канцерогенных полиаренов не исчерпывается пиреном и флуорантеном, он включает и иные высокомолекулярные ПАУ: бенз[k]флуорантен, бенз[a]пирен, дибенз[a,h]антрацен, бенз[g,h,i]перилен, количество которых увеличивается в почвах, рекультивируемых биопрепаратами на бактериальной основе. Для учета влияния высокомолекулярных ПАУ в исследуемых образцах рассчитаны доли «тяжелых» и «легких» полиаренов.

Биохимический анализ – дегидрогеназная активность, был выполнен автором данной работы под руководством кандидата биологических наук Щемелининой Татьяны Николаевны, в лаборатории Института биологии Коми НЦ УрО РАН.

Нефтяные углеводороды, обуславливая микробную сукцессию, определенным образом влияют на биохимические процессы в почвах. Исследования ферментативной активности позволяют квалифицировать почвенные нарушения. Влияние нефти и нефтепродуктов на ферменты почв многостороннее: прямое – ингибирование, разрушение или активация ферментов, и косвенное – изменение ферментативного пула почвы в результате ингибирования роста почвенной мезофауны и растений [11].

Распад нефти и нефтяных углеводородов в почве связан с окислительно-восстановительными процессами, происходящими при участии различных ферментов.

Уровень активности окислительно-восстановительных ферментов – один из критериев самоочищающейся способности почвы от нефтяных углеводородов.

В загрязненных нефтью почвах интенсивность окислительно-восстановительных процессов резко изменяется.

Важнейшим индикационным ферментом процессов окисления нефти является дегидрогеназа.

В химически чистые сухие пробирки вносят в указанной последовательности следующие растворы: 1,2 мл 1/15  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,5 мл 0,1 М глюкозы (субстрат для дегидрирования), 0,1 мл 0,1 М  $\text{MgSO}_4$ , 0,2 мл 0,5% трифенилтетразолий хлорида (ТТХ), 1 г почвы. Смесь инкубируют в термостате при 37°C в течение суток до появления окраски формазана.

Для извлечения формазана клетки разрушают ледяным ацетоном, который добавляют по 7 мл в каждую пробирку.

Из реакционной смеси, формазан экстрагируют толуолом (3 мл в каждую пробирку). Для полного извлечения формазана из реакционной смеси пробирки несколько раз встряхивают и отстаивают.

На полноту извлечения формазана указывает обесцвечивание реакционной смеси.

Формазан очень осторожно, с помощью пастеровской пипетки, переносят в кюветы для колориметрирования. Колориметрируют в кюветах 3 мл при синем-зеленом светофильтре (с фильтром 490 нм). Качество образованного бактериями формазана рассчитывают по калибровочной кривой. Исследования проводят не менее чем в пятикратной повторности для статистической обработки полученных материалов. При этом, значение доверительного коэффициента и в зависимости от этого показателя оценивают действие испытанной концентрации вещества.

Для построения калибровочной кривой готовят растворы формазана различной концентрации.

Для приготовления основного раствора к 10 мг трифенилтетразолий хлорида добавляют 100 мг гидросульфита натрия и 2-5 мл фосфатного буфера с рН 7,4. Образовавшийся осадок формазана доводят толуолом до объема 20 мл.

Основной раствор содержит 1000 мг формазана в 2 мл.

Из основного раствора путем сочетания его различных объемов с толуолом готовят стандартные растворы с концентрацией формазана от 5 мкг до 500 мкг.

Светопоглощаемость стандартных растворов измеряют на ФЭЖе и по полученным данным строят кривую. (Фото данного прибора – Приложение П).

Методы количественного учета отдельных групп почвенных микроорганизмов проводятся в лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии по общепринятым методикам.

Химический анализ почвенных проб проводится в экоаналитической лаборатории. Подготовка почвенных проб заключается в высушивании образцов в специальном помещении, растирка и просев через сито под тягой. Для передачи образцов в экоаналитическую лабораторию на проведение химического анализа почвенных проб готовится заявка по специальной форме.

#### 4.3 Оценка и анализ полученных результатов

##### 1) Фоновый участок и участок охранной зоны

Почва фоновой пробы характеризуется повышенной кислотностью (0-5 см) – рН 6,35, (5-50 см) рН 4,85. Несмотря на значительную кислотность, горизонты фоновой почвы характеризуются средней и повышенной степенью насыщенности основаниями, что определяется средним и повышенным содержанием обменных катионов кальция (от 3,6 до 21,3 ммоль/100г почвы) и магния (от 1,31 до 5,6 ммоль/100г почвы).

Гумусовый профиль охватывает верхнюю 0-5 см толщу (содержание С – 16,2 %). Содержание нефтепродуктов в почве 16-27 мг/кг соответствует региональному фону.

Почва охранной зоны нейтральная (рН 7,72), не насыщена основаниями с низким содержанием углерода и азота, по содержанию нефтепродуктов – допустимый уровень загрязнения.

Северные почвы характеризуются замедленным темпом разложения клетчатки. Наибольшей интенсивностью характеризуется лишь верхний слой (0-5 см) (Таблица 4.3.1), в котором обнаруживаются жизнеспособные микроорганизмы. Преобладают в почве фонового участка и охранной зоны аммонификаторы.

Таблица 4.3.1 – Численность микроорганизмов в почве,  $\times 10^6$  КОЕ/г а.с.п.

№	Горизонт	$\times 10^6$ КОЕ/г а.с.п.				К <sub>минер</sub>
		Аммонификаторы	Сахаролитики	Минерализаторы азота	Азотфиксаторы	
1	Фон 0-5 см	85,2	29,9	15,9	1,21	0,19
2	Фон 5 – 50 см	1,08	1,6	0,66	0,76	0,61
3	Охранная зона	4,23	2,02	0,61	1,5	0,14

Ферментативная активность почв является объективным показателем биологической активности, отражающим интенсивность и направленность протекающих биохимических процессов. Ферментативная активность предложена как потенциальный индикатор качества почвы из-за ее связи с почвенной биотой, легкости определения и быстрого отклика на изменения, вызванные антропогенным воздействием. По степени обогащенности ферментом – дегидрогеназой почву верхней толщии фонового участка можно отнести к богатой (Таблица 4.3.2.).

В нижней толще активность микроорганизмов и соответственно ферментов снижается.

В почве охранной зоны биологическая активность низкая. Значение коэффициента минерализации меньше единицы, что свидетельствует о слабых процессах минерализации азота.

Таблица 4.3.2 – Дегидрогеназная активность (мг формазана/ 1 г почвы)

Наименование пробы	07.07.18
Фон, 0-5 см	19,25
Фон, 5-50 см	1,532
Охранная зона	1,22

## 2) Эксперимент «Гидропосев»

В таблицах 4.3.3 и 4.3.4 представлены агрохимические показатели почвы эксперимента «Гидропосев». Почва характеризуется повышенной кислотностью. Загрязнение в почве участка преимущественно нефтесульфатное. В почве до постановки эксперимента содержание нефтепродуктов высокое – 89000мг/кг.

Таблица 4.3.3 – Агрохимические показатели почвы

Наименование пробы	pH (вод.)	pH (сол.)	Сухой остаток, %	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , %	Cl, %	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , %	Ca (в.в.), %	Mg (в.в.), %
М 2000 07.07.2018	4,68	3,74	0,45	0,031	0,14	<0,024	0,024	0,0061
М 2000 11.07.2018	4,41	3,42	0,62	0,012	0,173	<0,024	0,027	0,0071
М2000 12.09.2018	4,78	3,63	0,65	0,031	0,062	<0,024	0,0223	0,0055

Спустя 3 суток, после проведенного гидропосева, содержание нефтепродуктов снижается более, чем в 2 раза и спустя 60 суток, эффективность очистки составляет 74% (Таблица 4.3.4).

Таблица 4.3.4 – Агрохимические показатели почвы

Наименование пробы	K (в.в.), %	Na (в.в.), %	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/кг	K <sub>2</sub> O, мг/кг	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг	N, %	C, %	НП, мг/кг
М 2000 07.07.2018	0,0067	0,074	0,08	135	180	0,61	21,5	89000
М 2000 11.07.2018	0,0057	0,094	<0,037	109	106	1,03	32	34000
М2000 12.09.2018	0,0043	0,076	0,3	152	22	1,44	47,6	23000

Для оценки биогенного и антропогенного вклада *n*-алканов в процессе рекультивации в различных средах введен индекс СРІ (carbon preference index). *N*-алканы воска высших растений демонстрируют выраженное преобладание нечетных алканов (С25–С37), тогда как ископаемое топливо имеет индекс, близкий к единице.

На основе полученных данных по распределению *n*-алканов рассчитывали индекс СРІ.

Процессам биологической деструкции в большей степени подвержены низкомолекулярные ПАУ. При оценках загрязнения компонентов экосистем ПАУ рекомендуется применять индекс техногенности – соотношение суммы пирена и флуорантена (преимущественно техногенного происхождения, обладающие канцерогенной активностью) к сумме хризена и фенантрена (природного генезиса).

Таблица 4.3.5 – Содержание ПАУ в почве эксперимента, мкг/кг

Наименование пробы	Нафталин, мкг/кг	Аценафтен, мкг/кг	Флуорен, мкг/кг	Фенантрен, мкг/кг	Антрацен, мкг/кг	Флуорантен, мкг/кг	Пирен, мкг/кг	Бенз[а]антрацен, мкг/кг
М 2000 07.07.2018	0	0	4,4	32,8	37,4	139,9	19,1	90,5
М 2000 11.07.2018	0	0	5	0	10,1	45,6	196,8	47,5
М2000 12.09.2018	0	0	3,3	13,4	8,8	16,9	176	33,2

Список канцерогенных полиаренов не исчерпывается пиреном и флуорантеном, он включает и иные высокомолекулярные ПАУ: бенз[к]флуорантен, бенз[а]пирен, дибенз[а,h]антрацен, бенз[g,h,i]перилен, количество которых увеличивается в почвах, рекультивируемых биопрепаратами на бактериальной основе.

Таблица 4.3.6 – Содержание ПАУ в почве эксперимента, мкг/кг

Наименование пробы	Хризен, мкг/кг	Бенз[b]флуорантен, мкг/кг	Бенз[k]флуорантен, мкг/кг	Бенз[а]пирен, мкг/кг	Дибенз[а,h]антрацен, мкг/кг	Бенз[ghi]перилен, мкг/кг	Инден[1,2,3-cd]пирен, мкг/кг	Сумма ПАУ, мкг/кг
М 2000 07.07.2018	715,3	410,3	12,8	60,7	0	0	308,9	1832
М 2000 11.07.2018	341,5	113,5	5,5	25,4	0	0	235	1026
М2000 12.09.2018	264	127,4	6,6	22,9	0	0	0	672,5

В начале эксперимента в исследуемых образцах преобладали низкомолекулярные гомологи с длиной цепи C14-C21, что соответствует нефтяному загрязнению участка (Рисунок 4.3.1).

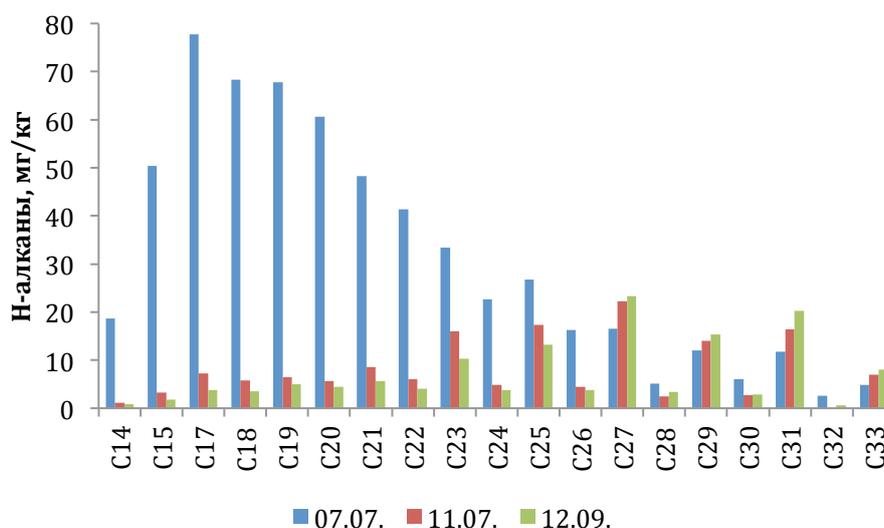


Рисунок 4.3.1 – Структура алкановой фракции исследуемых образцов в ходе эксперимента.

Однако, после внесения микроводорослей изменился характер распределения алканов, отмечено преобладание высокомолекулярных, преимущественно, нечетных гомологов, что иллюстрирует индекс СРІ (Рисунок 4.3.2 А). Обратная картина наблюдалась в распределении полиаренов. В ходе эксперимента повышалась доля легких ПАУ (Рисунок 4.3.2 В), при этом окислялись, вероятно, легкие ПАУ биогенного происхождения, что отразилось в повышении Индекса техногенности.

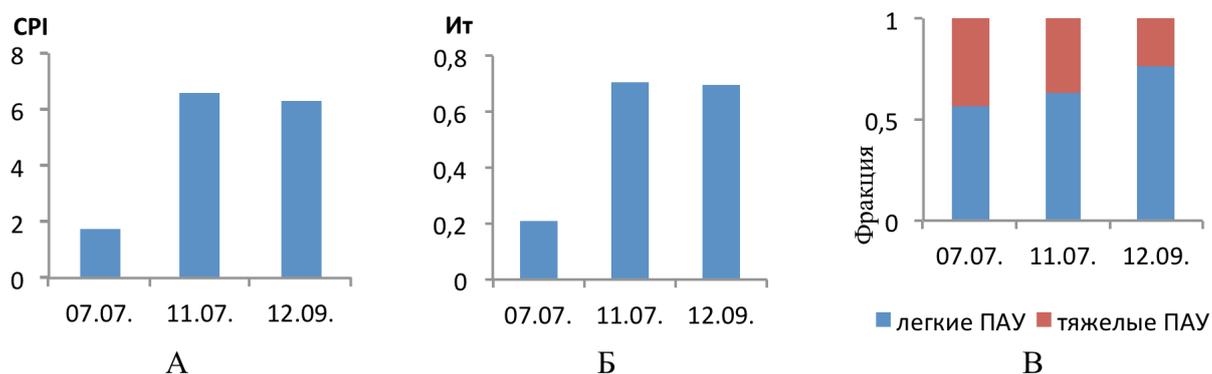


Рисунок 4.3.2 – Значения индексов СРІ (А), техногенности ПАУ (Б) и распределение фракций ПАУ (В) в почве.

Анализ функциональной структуры почвенных микробоценозов выявил преобладание микроорганизмов, усваивающих минеральные соединения азота, над утилизаторами его органических форм в почвах обоих участков (КАА/МПА=3,18-2,3), что указывает на высокую интенсивность процессов микробиологической минерализации органических веществ (Таблица 4.3.7).

Таблица 4.3.7 – Численность микроорганизмов в почве,  $\times 10^6$  КОЕ/г а.с.п.

№	Наименование пробы	$\times 10^6$ КОЕ/г а.с.п.				К <sub>минер</sub>
		Аммонификаторы МПА	Сахаролитики Чапека	Минерализаторы азота, КАА	Азотфиксаторы, Эшби	
1	M2000 07.07.18	12,7	1,09	29,4	7,23	2,3
2	M2000 11.07.18	0,17	0,11	0,54	0,79	3,18
3	M2000 12.09.18	0,048	0.94*	0.56*	35	

\* - наличие микромицетов

В то же время, к концу эксперимента наблюдается высокая численность олигонитрофилов (Эшби/МПА), связывающих азот из рассеянного состояния, доказывают повышенную олиготрофность среды по углероду и азоту. В почве, отобранной спустя 60 суток обнаружены микромицеты, что свидетельствует о благоприятном течении восстановительных процессов. Это подтверждает и повышение процессов дегидрирования в почве изучаемого периода (Таблица 4.3.8).

Таблица 4.3.8 – Дегидрогеназная активность, мг формазана/ 1 г почвы

Наименование пробы	Д.А.
M2000 07.07.18	9,24
M2000 12.09.18	10,97

### 3) Эксперимент «Микроводоросли»

В таблице Р.1 и С.1 (Приложение Р и Приложение С) представлены агрохимические показатели почвы эксперимента «Микроводоросли». Почва характеризуется повышенной кислотностью. Загрязнение в почве участка преимущественно нефте-сульфатное.

Все участки, кроме М1-1 с высоким содержанием хлоридов в почве, причем в процессе биоремедиации в почвах некоторых участков спустя 3 суток происходит повышение содержания хлоридов после внесения минеральных удобрений (М1-2) и микроводорослей с минеральными удобрениями (М1-4, М1-5). Через 60 суток содержание хлоридов снижается.

Комплексный подход в оценке биоремедиации почв предполагает огромный массив получаемых данных. Анализ таких данных сложен, возникает потребность в обобщенных усредненных показателях. Эффективность очистки от нефтепродуктов показана на рисунках 4.3.3, 4.3.4 и 4.3.5, таблицах Т.1 и У.1 (Приложение Т и Приложение У). Процессы нефтеокисления с помощью аборигенной микробиоты происходят как при активизации минеральными удобрениями, так и при внесении дополнительного биологического стимулятора – микроводорослей. Снижение содержания НП происходит на 53% и 77%, соответственно (Рисунок 4.3.3).

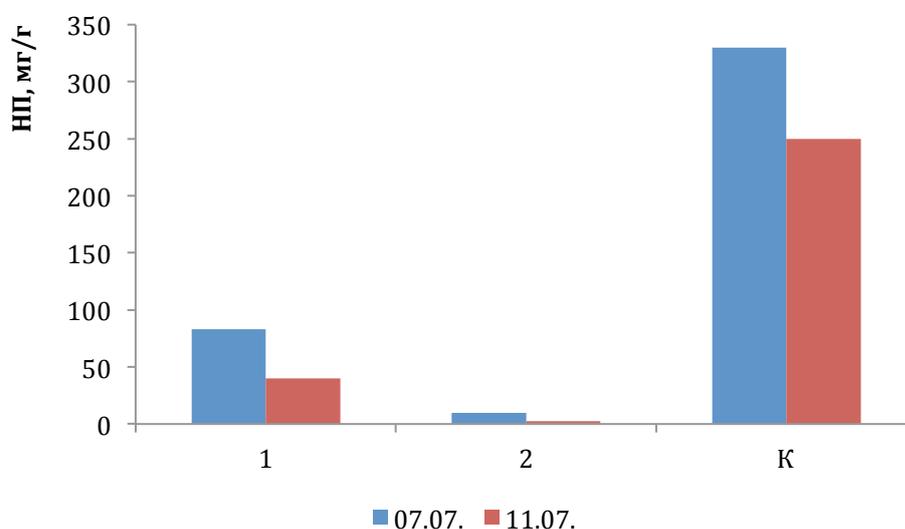


Рисунок 4.3.3 – Содержание нефтепродуктов, мг/кг в почве, обработанной раствором удобрений NPK (1), обработанной суспензией микроводорослей и NPK (2) и контрольного участка (К)

Качественные изменения состава нормальных углеводов отражены в рисунке 4.3.4. Во обоих вариантах отмечена тенденция к значительному увеличению доли нечетных высокомолекулярных гомологов в первые дни эксперимента с некоторым снижением в конце. С учетом того, что эта тенденция выражена и в почве контрольного участка, можно предположить положительное влияние как проводимых мероприятий, так и процессов физического выветривания.

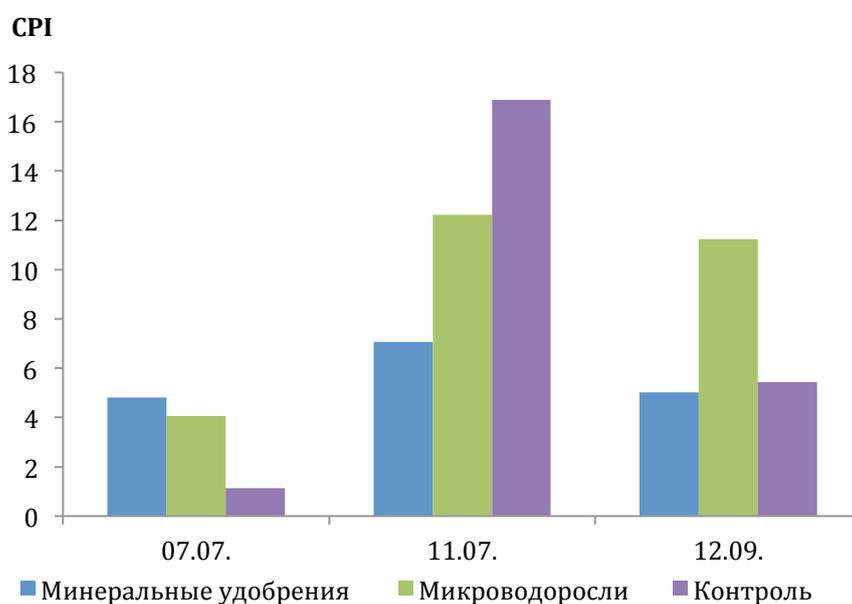


Рисунок 4.3.4 – Значения Индекса CPI

Индекс техногенности ПАУ в варианте с внесением удобрений возрастал в начале эксперимента, а затем снижался, что, вероятно, связано с активизацией разложения биогенных низкомолекулярных ПАУ автохтонной микрофлорой (Рисунок 4.3.5). Внесение микроводорослей проводило к активному разложению ПАУ как биогенного, так и техногенного генезиса.

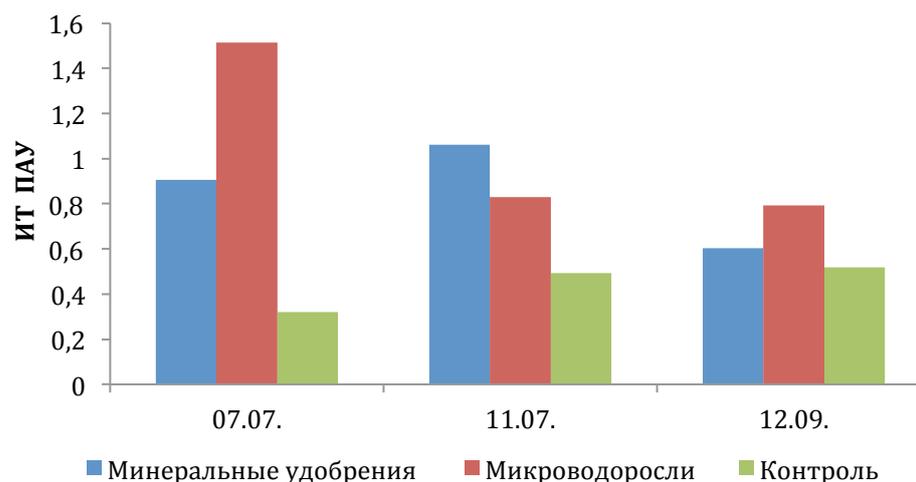


Рисунок 4.3.5 – Значения индекса техногенности

При внесении как минеральных удобрений, так и удобрений с микроводорослями происходит биостимулирование аборигенной микробиоты (таблица Ф.1, Приложение Ф). Высокая интенсивность процессов микробиологической минерализации органических веществ происходит в почвах вариантов без биологической добавки (М1-1, М1-2, М1-3). В почвах вариантов коэффициент минерализации указывает на преобладание процессов утилизации органических форм. К концу эксперимента практически во всех вариантах наблюдается высокая численность олигонитрофилов (Эшби/МПА), связывающих азот из рассеянного состояния, доказывают повышенную олиготрофность среды по углероду и азоту. В почве, отобранной спустя 60 суток обнаружены микромицеты, что свидетельствует о благоприятном течении сукцессионных процессов. Дегидрогеназная активность высокая и повышается в процессе микробного окисления углеводов нефти (таблица Х.1, Приложение Х).

## Заключение

Данная работа была посвящена разработке и оценке эффективности методов ликвидации нефтяных разливов при помощи микроводорослей.

В нынешнее время, когда нефть является чрезвычайно важным и необходимым веществом, когда приходится ее транспортировать из-за недостаточно развитой инфраструктуры в некоторых районах для дальнейшей переработки, избежать аварийных разливов или утечек практически невозможно. Поэтому очень важно подходить к этому вопросу со всей ответственностью.

В настоящее время создано много биологических препаратов для рекультивации нарушенных земель, но не все такие препараты могут быть применены на любых территориях с разными климатическими и природными условиями, не все бактерии будут неприхотливыми в тех или иных условиях.

Уникальность микроводорослей в том, что они менее прихотливы, нежели бактерии или дрожжи, к условиям среды, они более выносливы, хорошо культивируются и срок их хранения больше в 2 раза, чем остальных препаратов. В то же время, их достаточно просто распространять на загрязненные участки, путем внесения на поверхность почвенного слоя, не перемешивая с грунтом.

Проведенные биохимические анализы показали, что пробы с фонового участка характеризуются повышенной кислотностью в обоих горизонтах. Содержание нефтепродуктов в фоновой пробе соответствуют региональному фону – 16 -27 мг/кг. Почвы данного района отличаются замедленным темпом разложения клетчатки. Жизнеспособные микроорганизмы обнаружены только в верхнем горизонте фоновой пробы. Ферментативная активность в фоновой пробе высокая, так как микроорганизмы функционируют в здоровой, незагрязненной среде обитания. Почва охранной зоны нейтральна, то есть  $pH=7,72$ .

В данной пробе низкое содержание углерода и азота, а содержание нефтепродуктов допустимо. Биологическая активность низкая, об этом свидетельствует заниженный коэффициент минерализации.

Пробы, отобранные перед постановкой экспериментов, отличаются очень высоким содержанием нефтепродуктов, которое равняется 89000 мг/кг.

После проведения эксперимента «Гидропосев», спустя 3 суток, процент содержания нефтепродуктов снижается более, чем в 2 раза. Через 60 суток эффективность очистки почв от нефтепродуктов после данного эксперимента составляет 74%. Процессам биологической деструкции подвержены низкомолекулярные ПАУ. При оценках загрязнения ПАУ, обычно применяют индекс техногенности, а это соотношение суммы пирена и флуоратана к сумме хризена и фенантрена. В начале эксперимента преобладали низкомолекулярные гомологи, но после внесения микроводорослей изменился характер распределения алканов, теперь преобладают высокомолекулярные гомологи, это демонстрирует индекс СРІ. А так как, вероятно, окислялись легкие ПАУ, повышался индекс техногенности. При этом, в почве обнаружались микромицеты, что свидетельствует о благоприятном протекании восстановительных процессов.

Так как при оценке биоремедиации почв предполагается огромное количество данных, возникает потребность в усреднении данных. По результатам эксперимента «Микроводоросли» можно сказать, что процессы окисления нефтяных углеводородов происходят, как при внесении минеральных удобрений, так и при совместном внесении микроводорослей и удобрений. Снижение содержания нефтепродуктов, спустя 3 суток, происходит на 53%, а через 60 суток на 77%.

Индекс техногенности ПАУ в варианте с внесением удобрений возрастал в начале эксперимента, а затем снижался, это, вероятно, связано с активацией разложения биогенных низкомолекулярных ПАУ автохтонной микрофлоры. При внесении микроводорослей с удобрениями происходит биостимулирование данной микрофлоры.

К концу эксперимента «Микроводоросли», то есть спустя 60 суток, наблюдается высокая дегидрогеназная активность.

В ходе проведения исследования доказано, что при применении новых технологий ликвидации нефтяных разливов в почве при помощи микроводорослей, почва очищается от загрязнения. Из этого следует, что такие методы с применением микроводорослей достаточно эффективны и подходят для ликвидации нефтяных разливов. В последующем, такие технологии можно будет применять в промышленных масштабах.

## Список использованных источников

1. Аветов Н. А. Загрязнение нефтью почв таежной зоны Западной Сибири [Текст] / Н. А. Аветов, Е. А. Шишконокова // Бюллетень Почвенного института им. В. В. Докучаева. – 2011. – вып. 68. – С. 45-55.
2. Автономова Е. Горячая нефть Сибири [Текст] / Автономов Е. // «ЛУКОЙЛ-Западная Сибирь». Двадцать четыре часа. – М.: ПЕНТА, 2014. – 83 с.
3. Айдосов Г. А. Модельная оценка загрязнения атмосферного воздуха при испарении нефти в местах аварий [Текст] / Г. А. Айдосов, А. А. Айдосов // Вестник КазНТУ. – 2009. – №4. – С. 262-264.
4. Артемов А. Ю. Источники загрязнения окружающей среды при хранении нефти и нефтепродуктов [Текст] / А. Ю. Артемов, К. М. Сыч, Д. С. Калимуллина // Наука и молодежь в XXI веке: сборник статей. – 2017. – С. 10-12.
5. Большаник П. В. Физическая география и экология региона [Текст] / П. В. Большаник, А. А. Земцов; под ред В. И. Булатова, Б. П. Ткачев. – Ханты-Мансийск: Изд-во ЮРГО, 2006. – С.8-9
6. Васильев А. В. Экологическое воздействие буровых шламов и подходы к их переработке [Текст] / А. В. Васильев, О. В. Тупицына // Проблемы прикладной экологии. – 2014. – № 43. – С. 308-312.
7. Гашев С.Н. Динамика численности млекопитающих в экологическом мониторинге [Текст] // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. Вып. 1. Тюмень, 2000. - С. 70- 78.
8. ГОСТ Р 51858-2002. Нефть. Общие технические условия. Требования охраны окружающей среды. [Текст]. – введ. 2002-07-01. – М.: Стандартиформ, 2006. – 15 с.

9. Грищенко О.М. Ботанические аномалии как поисково-разведочный критерий нефтегазоносности [Текст] / О. М. Грищенко // Экология. – 1982. – №1. С. 18-22.
10. Давыдова С. Л. Нефть и нефтепродукты в окружающей среде: Учеб. пособие. – М.: Изд-во РУДН, 2004. – С. 32-41.
11. Ерцев Г. Н. Опыт ликвидации аварийных разливов нефти в Усинском районе Республики Коми [Текст] / Г. Н. Ерцев, Г. М. Баренбойм, А. И. Таскаев. – Сыктывкар, 2000. – 183 с.
12. Звягинцева Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии [Текст] / Д. Г. Звягинцева. – М: МГУ, 1991. – 167 с.
13. Назаров А. В. Влияние нефтяного загрязнения почвы на растения [Текст] / А. В. Назаров // Вестник Пермского университета. – 2007. – вып. 5. – С. 134-141.
14. Парфенов В. Г. Аварийные разливы нефти и причины их обуславливающие [Текст] / В. Г. Парфенов, А. С. Никифоров // Проблемы безопасности при чрезвычайных ситуациях. - №9. – 1997. – С. 174-177.
15. Рогозина Е. А. Сравнительная характеристика отечественных биопрепаратов, предлагаемых для очистки почв и грунтов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами [Текст] / Е. А. Рогозина, О. А. Андреева, С. И. Жаркова // Нефтегазовая геология. – 2010. – №3. – С. 4-17.
16. Султанмагомедов С. М. Обеспечение Долговечной и безопасной эксплуатации промысловых трубопроводов, подверженных канавочному износу [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. техн. наук: (29.10.2003) / Султанмагомедов Султанмагомед Магомедтагирович; Уфимский государственный нефтяной технический университет. – Уфа, 2003. – 26 с.
17. Сыроедов Н. Е. Проблемы экологии при хранении и транспортировке нефтепродуктов [Текст] / Н. Е. Сыроедов. А. В. Попов. – М.: ЦНИИТЭНефтехим. – 1994. – 58 с.

18. Хорошева О.В. Изменения растительности верховых болот в результате антропогенного воздействия [Текст] / О. В. Хорошеева // Научн. докл. высшей школы. Биол. науки. – 1985. – №11. – С. 84-87.
19. Чугунова М. В. Особенности биодegradации нефти в почвах Северо-Запада России [Текст] / М. В. Чугунова, Н. В. Маячкина, Л. Г. Бакина // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. – 2001. – №5. – С. 110-117.
20. Шамраев А. В. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды [Текст] / А. В. Шамраев, Т. С. Шорина // Вестник ОГУ. – 2009. – №6. – С. 642-645.
21. Юдкин В. А. Изменение населения наземных позвоночных при освоении нефтяных и газовых месторождений на севере Западной Сибири [Текст] / В. А. Юдкин, Л. Г. Вартапетов, В. Г. Козин // Сибирский экологический журнал. – 1996. – №6. – С. 573-583.
22. Янкевич М. И. Биоремедиация почв: вчера, сегодня, завтра [Текст] / М. И. Янкевич, В. В. Хадеева, В. П. Мурыгина // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». – 2015. – №2. – С. 199-208.
23. Отчет Департамента недропользования и природных ресурсов Ханты-Мансийского автономного округа – Югры за 2017 год в сфере развития нефтегазового комплекса. [Электронный ресурс]. URL: <https://depprirod.admhmao.ru/deyatelnost/otchety-o-rabote-departamenta/1039755/2017>. (Дата обращения 10.03.2019 г.)
24. Доклад об экологической ситуации в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре в 2017 году. [Электронный ресурс]. URL: <https://prirodnadzor.admhmao.ru/doklady-i-otchyety/doklad-ob-ekologicheskoy-situatsii-v-khanty-mansiyskom-avtonomnom-okruge-yugre/1815795/2017>. (Дата обращения: 15.03.2019 г.)