

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ КОРБАЛЕБУДУВАННЯ ІМЕНІ
АДМІРАЛА МАКАРОВА**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

НЕДОРОДА ВЛАДИСЛАВ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 502.174.2(043.3)

**ДИСЕРТАЦІЯ
ІННОВАЦІЙНА ТЕХНОЛОГІЯ БІОРЕМЕДІАЦІЇ
НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ
МІКРОБІОЛОГІЧНИХ КОНСОРЦІУМІВ**

183 – Технології захисту навколишнього середовища

18 – Виробництво та технології

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ В. М. Недорода

Науковий керівник – Трохименко Ганна Григорівна,
доктор технічних наук, професор

Миколаїв – 2023

АНОТАЦІЯ

Недорода В. М. Інноваційна технологія біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів із застосуванням мікробіологічних консорціумів. – Кваліфікаційна праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 183 – Технології захисту навколишнього середовища (18 Виробництво та технології) – Національний університет імені адмірала Макарова, Миколаїв, 2023.

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено ефективність використання консорціуму бактерій роду *Bacillus* для деструкції нафтових вуглеводнів у разі інтродукції до забрудненого нафтопродуктами ґрунту. Розроблено науково обґрунтовані, економічно та енергетично доцільні заходи щодо застосування протестованого біопрепарату в технології біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів.

Обґрунтовано актуальність теми дослідження, сформульовано мету й завдання, висвітлено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів. Дана загальна характеристика нафтових вуглеводнів як одного з пріоритетних поліутантів навколишнього середовища. Описано вплив нафти та нафтопродуктів на компоненти ґрунтової екосистеми. Розглянуто основні методи поводження та висвітлено проблеми, пов'язані з переробкою нафтошламових відходів. Проаналізовано наукові праці щодо вивчення корисних ґрунтових мікроорганізмів, їхньої ролі у процесах мікробіологічної деструкції нафтопродуктів, особливості взаємодії з рослинами та ґрунтовою мікробіотою.

Дослідження за темою дисертаційної роботи виконувалися впродовж 2019–2023 років на базі Національного університету кораблебудування імені адмірала Макарова. Планом досліджень передбачалося вивчення впливу бактерій роду *Bacillus* на фітотоксичність нафтозабрудненого ґрунту. Іншим завданням було оцінити результативність використання органічних добрив,

застосованих окремо і разом із мікроорганізмами та їхній вплив на підвищення ефективності мікробіологічної деструкції у кореневій зоні рослин. Також визначалися закономірності використання меліорантів для активізації процесів фітостимуляції бактерій.

Загалом, у процесі досліджень використано різні штами бактерій, які належать до роду *Bacillus*. Досліджено особливості зміни фітотоксичного впливу забрудненого нафтою ґрунту при використанні комплексного біопрепарату на основі штамів мікроорганізмів *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum*, *Bacillus amyloliquefaciens* та *Bacillus subtilis* у лабораторних умовах. Рівень деструкції нафтових вуглеводнів визначався при різних комбінаціях концентрації забруднювача та біопрепарату, а також за відсутності нафтового забруднення, задля забезпечення оцінки впливу біопрепарату на навколишнє середовище.

Ґрунт є одним із головних об'єктів довкілля, центральною сполучною ланкою між біотичною та абіотичною складовими біосфери. Для оцінки ґрунтів та ґрунтового покриву потрібно розуміння та застосування цілого комплексу аналітичних та теоретичних методів, доступних в арсеналі ґрунтознавства. На даний момент існують різні методи контролю забруднення навколишнього середовища. Одним із перспективних методів проведення екологічних досліджень є біотестування, яке дозволяє встановити факт токсичності ґрунту, тобто вивчає реакцію живих організмів на забруднюючі речовини.

У ході роботи фітотоксичність ґрунтів оцінювалася методом біотестування за співвідношенням висоти паростків та отриманої маси органічної речовини. У ході досліджень використовувались різні рослинні тест-системи, а саме Редис сорту «Сора» (*Raphanus sativus var. sativus*), Суданська трава (*Sorghum bicolor subsp. Drummondii*), Тимофіївка лучна (*Phleum pratense*), Козлятник (*Galega officinális*), Конюшина лучна (*Trifolium pratense*), Люцерна посівна (*Medicago satíva*), Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*). Різноманітність використаних індикаторних рослин забезпечила комплексний аналіз

результатів нафтодеструкції, а також дозволила оцінити чутливість насіння кожного окремого виду до токсичних речовин.

Проведені дослідження виявили відмінності у реакціях мікрофлори на забруднення середовища вуглеводнями, кількісні та якісні переваги мікробних угруповань у розгалуженій кореневій зоні рослин, що забезпечують ефективність біоре mediaції та її переваги - стабільність та пролонгованість.

Встановлено пряму залежність між пригніченням морфометричних показників досліджуваних біоіндикаторів при різних концентраціях нафти у ґрунті та використанням розчину біопрепарату бактерій-нафтодеструкторів. Протестований біопрепарат здатний створити необхідні умови для проростання рослин у забрудненому нафтою та нафтопродуктами ґрунті, навіть при високих концентраціях забруднення.

Дослідження показали можливість використання біопрепарату на основі штаму мікроорганізмів *Bacillus* для біодеградації нафтових вуглеводнів в умовах ґрунтового забруднення. Протестований біопрепарат дозволяє знизити загальну фітотоксичність забрудненого ґрунту на 51,36 - 84,18 % при невисокому рівні концентрації нафти та нафтопродуктів.

Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено ефективність застосування добрив на основі фульвокислот у якості біостимулятора у комплексі з бактеріальним препаратом на підставі наявності в ньому необхідних поживних речовин для росту і розвитку мікроорганізмів-нафтодеструкторів, що задовольняє вимогам екологічної безпеки щодо поводження з відходами.

Хроматографічний аналіз фракційного складу ґрунту показав, що за 86 діб рекультивації 34,52% нафтошламу було еліміновано у разі використання добрив і 27,31% - без використання добрив. Таку ефективність ремедіації можна оцінити як задовільну, враховуючи високу вихідну концентрацію (50-70%) і склад забруднювача, представленого легкими та важкими фракціями нафтових вуглеводнів, швидкість його деградації у дослідних зразках була

досить високою (0,233 г/добу). При цьому деградації бактеріями зазнавали всі основні легкі фракції нафтошламу.

У ході робіт також проводилось дослідження впливу соломи як меліоранту на процес біодеградації нафтопродуктів. Результати вказують на користь додавання соломи в ґрунт, оскільки вона створює кращі умови для кругообігу речовин у ґрунтосуміші. Однак, як і у експериментах виключно з біопрепаратом на початку процесу спостерігається масова загибель молодих рослин. Подібний ефект підтверджує попередні висновки про те, що фітотоксичний ефект пов'язаний не стільки фізичними властивостями ґрунту, скільки з проникненням нафтових вуглеводнів до рослин під час вегетаційного періоду. Цей ефект також спостерігається у варіантах з соломною у якості фітомеліоранту, але за відсутності мікроорганізмів-нафтодеструкторів. Оскільки первинна фітотоксична дія обумовлена в основному легкими фракціями нафти - їх ефект швидко ослаблюється, але без біодоповнення бактеріями *Bacillus* фітотоксичність помітно не знижується. Внаслідок цього рослини піддаються стагнації та засихають.

Загалом, використання фітомеліорантів справляло позитивний вплив на мікробіоту нафтозабрудненого ґрунту, проте ступінь виразності ефекту впливу був неоднаковим у різних випадках. Сам біопрепарат активніше, ніж солома стимулював зниження фітотоксичності, у тому числі і за рахунок активних мікроорганізмів, здатних розкладати вуглеводні. Важливим моментом є також те, що хоч солома і може виступати у якості більш економної альтернативи біопрепарату, вона, тим не менш, не показує симбіотичного ефекту у разі комбінативного використання з добривами.

Описані дослідження продемонстрували, що і рослини, і мікроорганізми, і, особливо, їх асоціації мають значний потенціал адаптації і деструктивної активності по відношенню до нафтових вуглеводнів. Спрямоване використання цього потенціалу для утилізації нафтових вуглеводнів може мати суттєвий ефект у системі технологій біоре mediaції.

Запропоновано технологію біоремедіації нафтошламових сумішей та нафтозабруднених ґрунтів біологічним методом, а саме за допомогою внесення протестованої у дослідженні композиції біопрепарату нафтоокиснювальних бактерій роду *Bacillus*. Також у якості каталізатору процесів нафтодеструкції запропоновано використовувати органічні добрива, у даному випадку це - добрива на основі фульвокислот, а у якості розпушувача для покращення аераційних процесів ґрунтосуміші використовувати соломку.

Реалізація запропонованого підходу дозволяє зменшити техногенне навантаження з боку нафтовидобувної промисловості на довкілля у результаті відновлення порушених земель чи ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами. Впровадження подібних технологій здатне забезпечити покращення якості підходів до поводження з нафтошламами та загальним забрудненням нафтопродуктами територій, які відводяться під нафтовидобувну діяльність.

Ключові слова: біоремедіація, біотестування, біотехнології, рециклінг, екологічна безпека, відновлення ґрунтів, структура ґрунтів, екологія ґрунтів, забруднення ґрунтів, фітотоксичність, плавнева рослинність, екосистема, природне середовище, мікроорганізми, бурові відходи, нафтове забруднення, нафтопродукти.

Список публікацій здобувача

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

Статті у наукових фахових виданнях, включених до міжнародної наукометричної бази даних Scopus і Web of Science

1. Nedoroda V., Trokhymenko G., Khrapko T., Koliehova A. Analysis of Petroleum Biodegradation by a Bacterial Consortium of *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Ecological Engineering*. 2021. Vol. 22. Iss. 11. P. 36–42. <https://doi.org/10.12911/22998993/143017>

2. Nedoroda V., Trokhymenko G., Magas. N. Bioremediation Possibilities of Oil-Contaminated Soil by Biosurfactant Based on *Bacillus* Strain. *Journal of Ecological Engineering*. 2022. Vol. 23. Iss. 8. P. 49-55. <https://doi.org/10.12911/22998993/150672>

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Аналіз деструктивного потенціалу мікроорганізмів роду *Bacillus* у комбінації з фульвокислотами для ризодеградації нафтових вуглеводнів. *Екологічні науки: науково-практичний журнал*. 2023. № 1(46). С. 85-91. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2023.eco.1-46.15>
2. Г. Г. Трохименко, В. М. Недорода. Технологічні етапи біоремедіації забруднених нафтопродуктами ґрунтів на основі мікроорганізмів роду *Bacillus*. *Збірник наукових праць НУК*. 2023. № 2-3. С. 167-177. [https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3\(491-492\).20](https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3(491-492).20)

Монографії та розділи в монографіях

1. Трохименко Г. Г., Недорода В. М., Степова О. В. Оцінка ефективності *Bacillus Subtilis* при біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів за допомогою біотестування. *Подолання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022*: колективна монографія, за ред. М. С. Мальований, О. В. Степова. Полтава, 2022. С. 133-145. <https://doi.org/10.23939/monograph2022>

Тези доповідей та матеріали конференцій, з'їздів

1. Трохименко Г. Г., Храпко Т. М., Недорода В. М. Оцінка ефективності біодеструкції нафти і нафтопродуктів при використанні комплексного біопрепарату на основі штамів мікроорганізмів роду *Bacillus*. Проблеми екології та енергозбереження: матеріали XIV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 17-19 вересня). Миколаїв, 2021. С. 6-9.

2. Трохименко Г. Г., Храпко Т. М., Недорода В. М. Аналіз ефективності мікроорганізмів-нафтодеструкторів при очищенні нафтозабруднених ґрунтів. VIII-й Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнародною участю [Електронне мережне наукове видання]: Збірник наукових праць (м. Вінниця, 22–24 вересня). Вінниця, 2021. С. 160-161.
3. Трохименко Г. Г., Недорода В. М., Почечуєв В. В. Використання рослинних тест-систем для визначення фітотоксичності забрудненого нафтопродуктами ґрунту. «Екологія. Довкілля. Енергозбереження»: матеріали II Міжнародної науково-технічної конференції (м. Полтава, 2-3 грудня). Полтава, 2021. С. 311-314.
4. Г. Трохименко, В. Недорода. Аналіз ефективності мікроорганізмів роду *Bacillus* методом біотестування при очищенні нафтозабруднених ґрунтів. Сталий розвиток – стан та перспективи: матеріали III Міжнародного наукового симпозіуму (м. Львів, 26-29 січня). Львів, 2022. С. 57-58.
5. Трохименко Г. Г., Недорода В. М., Храпко Т. М. Вибір рослинних тест-систем для визначення фітотоксичності забрудненого нафтопродуктами ґрунту. Подолання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022: матеріали I Міжнародної науково-практичної конференції (м. Полтава, 26-27 травня). Полтава, 2022. С. 607-610.
6. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Ефективність використання мікроорганізмів *Bacillus* у комбінації з фульвокислотами для покращення процесів мікробіологічної деструкції нафтопродуктів. Інновації в суднобудуванні та океанотехніці: матеріали XIII Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 27-28 жовтня). Миколаїв, 2022. С. 27-31.
7. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Аналіз доцільності використання добрив на основі фульвокислот при біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів. Environment recovery and reconstruction: war context 2022: матеріали

Міжнародної науково-практичної конференції (м. Полтава, 17-18 листопада). Полтава, 2022. С. 106-107.

8. Недорода В. М., Трохименко Г. Г. Технічні особливості використання добрив у технології біоремедіації. Інновації в суднобудуванні та океанотехніці: матеріали XIV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 20-21 вересня). Миколаїв, 2023. С. 260-262.
9. Недорода В. М., Трохименко Г. Г. Використання рослинних меліорантів для підвищення ефективності біоремедіації. Проблеми екології та енергозбереження: матеріали XV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 21-22 вересня). Миколаїв, 2023. С. 54-56.

ABSTRACT

V. M. Nedoroda. Innovative technology of oil-contaminated soils bioremediation using microbiological consortia. – Qualification work on the rights of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the speciality 183 - Environmental Protection Technologies (18 Production and Technology) - Admiral Makarov National University, Mykolaiv, 2023.

The thesis theoretically substantiates and experimentally proves the effectiveness of using a consortium of bacteria of the genus *Bacillus* for the destruction of petroleum hydrocarbons when introduced into oil-contaminated soil. Scientifically grounded, economically and energetically feasible measures for the use of the tested biological product in the technology of bioremediation of oil-contaminated soils have been developed.

The relevance of the research topic is substantiated, the aim and objectives are formulated, the scientific novelty and practical significance of the results obtained are highlighted. A general description of petroleum hydrocarbons as one of the priority pollutants of the environment is given. The impact of oil and oil products on soil

ecosystem components is described. The main methods of management are considered and the problems associated with the processing of oil sludge waste are highlighted. The article analyses scientific works on the study of beneficial soil microorganisms, their role in the processes of microbiological degradation of oil products, and the specifics of interaction with plants and soil microbiota.

The research on the topic of the dissertation was carried out in 2019-2023 at the Admiral Makarov National University of Shipbuilding. The research plan included studying the impact of *Bacillus* bacteria on the phytotoxicity of oil-contaminated soil. Another objective was to assess the effectiveness of organic fertilisers used alone and in combination with microorganisms and their impact on improving the efficiency of microbiological degradation in the root zone of plants. We also determined the regularities of using ameliorants to activate the processes of phytostimulation of bacteria.

In general, different strains of bacteria belonging to the genus *Bacillus* were used in the course of the research. The peculiarities of changes in the phytotoxic effect of oil-contaminated soil when using a complex biological product based on strains of *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum*, *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis* in laboratory conditions were investigated. The level of destruction of oil hydrocarbons was determined at different combinations of pollutant and biopreparation concentrations, as well as in the absence of oil pollution, to assess the environmental impact of the biopreparation.

Soil is one of the main objects of the environment, a central link between the biotic and abiotic components of the biosphere. Soil and land cover assessment requires understanding and application of a range of analytical and theoretical methods available in the soil science arsenal. Currently, there are various methods of environmental pollution control. One of the most promising methods of environmental research is biotesting, which allows us to establish the fact of soil toxicity, i.e., to study the reaction of living organisms to pollutants.

In the course of the work, the phytotoxicity of soils was assessed by the method of biotesting by the ratio of sprout height and the resulting mass of organic

matter. Various plant test systems were used in the course of the research, namely Radish variety of "Sora" (*Raphanus sativus* var. *sativus*), Sudan grass (*Sorghum bicolor* subsp. *Drummondii*), Meadow timothy (*Phleum pratense*), Goat's-ear (*Galega officinális*), Meadow clover (*Trifolium pratense*), Seed alfalfa (*Medicago sativa*), and Field mustard (*Sinapis arvensis*). The variety of indicator plants used provided a comprehensive analysis of the results of oil degradation and also allowed us to assess the sensitivity of seeds of each species to toxic substances.

The studies revealed differences in microflora reactions to hydrocarbon pollution, quantitative and qualitative advantages of microbial communities in the branched root zone of plants, which ensure the effectiveness of bioremediation and its advantages - stability and prolongation.

A direct association was discovered between the suppression of the morphometric indicators of the examined bioindicators at varying concentrations of oil in the soil and the use of a biosurfactant. Even at high concentrations of pollutants, the studied biosurfactant can create appropriate conditions for plant germination in soil contaminated with oil and oil derivatives.

Studies have revealed that a biosurfactant based on a strain of *Bacillus* bacteria can be used to biodegrade petroleum hydrocarbons in conditions of soil pollution. At low concentrations of oil and oil derivatives, the evaluated biosurfactant reduces total phytotoxicity of contaminated soil by 51.36 - 84.18%.

The use of fulvic acid-based fertilizers as a biostimulator in combination with biosurfactant has been theoretically substantiated and experimentally confirmed due to the presence of the necessary nutrients for oil-degrading microorganisms, which meets the environmental safety requirements for waste management.

The chromatographic analysis of the soil fractional composition showed that during 86 days of remediation, 35.52% of oil sludge was eliminated from the soil use of fulvic acid and 27.31% from the soil without fulvic acid. This remediation efficiency can be assessed as satisfactory, given the high initial concentration (50-70%) and composition of the pollutant, the rate of its degradation in the test samples was quite high (0.233 g/day).

In the course of the work, the impact of straw as an ameliorant on the biodegradation of oil products was also studied. The results point to the benefits of adding straw to the soil, as it creates better conditions for the circulation of substances in the soil mixture. However, as in the experiments with the biological product alone, massive mortality of young plants was observed at the beginning of the process. This effect confirms the previous conclusions that the phytotoxic effect is not so much related to the physical properties of the soil, but rather to the penetration of oil hydrocarbons into plants during the growing season. This effect is also observed in the variants with straw as a phytomeliorant, but in the absence of oil-destroying microorganisms. Since the primary phytotoxic effect is caused mainly by light oil fractions, their effect is rapidly weakened, but without bio-supplementation with *Bacillus* bacteria, phytotoxicity does not significantly decrease. As a result, plants stagnate and dry up.

In general, the use of phytomeliorants had a positive effect on the microbiota of oil-contaminated soil, but the degree of severity of the effect varied from case to case. The biopreparation itself was more active than straw in reducing phytotoxicity, including through active microorganisms. Another important point is that although straw can be a more economical alternative to a biological product, it does not show a symbiotic effect when used in combination with fertilisers.

The above studies have demonstrated that both plants and microorganisms, and especially their associations, have a significant potential for adaptation and destructive activity in relation to petroleum hydrocarbons. The targeted use of this potential for the utilisation of petroleum hydrocarbons can have a significant effect in the system of bioremediation technologies.

The paper proposes a technology for bioremediation of oil-sludge mixtures and oil-contaminated soils using a biological method, namely, by introducing a biological preparation composition of oil-oxidising bacteria of the genus *Bacillus* tested in the study. It is also proposed to use organic fertilisers as a catalyst for oil degradation processes, in this case, fulvic acid-based fertilisers, and to use straw as a leavening agent to improve the aeration processes of the soil mixture.

Implementation of the proposed approach will reduce the technogenic burden of the oil industry on the environment as a result of the restoration of disturbed lands or soils contaminated with oil and oil products. The introduction of such technologies can improve the quality of approaches to oil sludge management and general oil product contamination of the areas allocated for oil production activities.

Key words: bioremediation, biotesting, biotechnology, recycling, environmental safety, soil restoration, soil structure, soil ecology, soil pollution, phytotoxicity, wetland vegetation, ecosystem, natural environment, microorganisms, drilling waste, oil pollution, petroleum products.

List of publications

Scientific works, in which the main scientific results of the thesis are published

Articles in scientific periodicals of other states and publications, which are indexed by databases of Scopus and Web of Science

1. Nedoroda V., Trokhymenko G., Khrapko T., Koliehova A. Analysis of Petroleum Biodegradation by a Bacterial Consortium of *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Ecological Engineering*. 2021. Vol. 22. Issue 11. P. 36–42. <https://doi.org/10.12911/22998993/143017>
2. Nedoroda V., Trokhymenko G., Magas. N. Bioremediation Possibilities of Oil-Contaminated Soil by Biosurfactant Based on *Bacillus* Strain. *Journal of Ecological Engineering*. 2022. Vol. 23. Issue 8. P. 49-55. <https://doi.org/10.12911/22998993/150672>

Articles in professional scientific publications from the list of the Ministry of Education and Science of Ukraine

1. Trokhymenko G. G., Nedoroda V. M. Analysis of the destructive potential of microorganisms of the genus *Bacillus* in combination with fulvic acids for the rhizodegradation of petroleum hydrocarbons. *Scientific and practical journal*

"Environmental Sciences". 2023. Vol. 1 (46), P. 85-91.
<https://doi.org/10.32846/2306-9716/2023.eco.1-46.15>

2. G. G. Trokhymenko, V. M. Nedoroda. Technological stages of bioremediation of soils contaminated by petroleum products on the basis of microorganisms of the genus *Bacillus*. NUS, *Collection of scientific works*. 2023. Vol. 2-3. P. 167-177.
[https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3\(491-492\).20](https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3(491-492).20)

Monographs

3. Trokhymenko, G. G., Nedoroda, V. M., Stepova, O. V. Evaluation of the effectiveness of *Bacillus Subtilis* in the bioremediation of oil-contaminated soils using bioassays. *Overcoming environmental risks and threats to the environment in emergencies* – 2022. 2022. P. 133-145.
<https://doi.org/10.23939/monograph2022>

Abstracts and materials of conferences, congresses

1. Trokhymenko G. G., Khrapko T. M., Nedoroda V. M. Evaluation of the efficiency of biodegradation of oil and oil products when using a complex biological preparation based on strains of microorganisms of the genus *Bacillus*. *Problems of ecology and energy saving: materials of the XIV International Scientific and Technical Conference* (Mykolaiv, September 17-19). Mykolaiv, 2021. P. 6-9.
2. Trokhymenko G. G., Khrapko T. M., Nedoroda V. M. Analysis of the efficiency of oil-destroying microorganisms in cleaning oil-contaminated soils. *VIII All-Ukrainian congress of ecologists with international participation* [Electronic network scientific edition]: Collection of scientific papers (Vinnytsia, September 22–24). Vinnytsia, 2021. P. 160-161.
3. Trokhymenko G. G., Nedoroda V. M., Pochechuev V. V. Use of plant test systems to determine the phytotoxicity of oil-contaminated soil. *"Ecology. Environment Energy saving"*: materials of the II International Scientific and Technical Conference (Poltava, December 2-3). Poltava, 2021. P. 311-314.

4. G. Trokhymenko, V. Nedoroda. Analysis of the effectiveness of microorganisms of the genus *Bacillus* by the biotesting method in cleaning oil-contaminated soils. *Sustainable development – state and prospects: materials of the III International Scientific Symposium* (Lviv, January 26-29). Lviv, 2022. P. 57-58.
5. Trokhymenko G. G., Nedoroda V. M., Khrapko T. M. Selection of plant test systems for determining the phytotoxicity of oil-contaminated soil. *Overcoming environmental risks and threats to the environment in emergencies - 2022: materials of the I International Scientific and Practical Conference* (Poltava, May 26-27). Poltava, 2022. P. 607-610.
6. Trokhymenko G. G., Nedoroda V. M. Effectiveness of using *Bacillus* microorganisms in combination with fulvic acids to improve the processes of microbiological destruction of oil products. *Innovations in shipbuilding and ocean engineering: materials of the XIII International Scientific and Technical Conference* (Mykolaiv, October 27-28). Mykolaiv, 2022. P. 27-31.
7. Trokhymenko G. G., Nedoroda V. M. Analysis of feasibility of using fertilizers based on fulvic acids in bioremediation of oil-contaminated soils. *Environment recovery and reconstruction: war context 2022: materials of the International Scientific and Practical Conference* (Poltava, November 17-18). Poltava, 2022. P. 51-53.
8. Nedoroda V. M., Trokhymenko G. G. Technical features of fertilizer use in bioremediation technology. *Innovations in shipbuilding and ocean engineering: materials of the XIV International Scientific and Technical Conference* (Mykolaiv, September 20-21). Mykolaiv, 2023. P. 260-262.
9. Nedoroda V. M., Trokhymenko G. G. The use of plant ameliorants to increase the efficiency of bioremediation. *Problems of ecology and energy saving: materials of the XV International Scientific and Technical Conference* (Mykolaiv, September 21-22). Mykolaiv, 2023. P. 54-56.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	20
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 АНАЛІЗ РІВНЯ ТЕХНОГЕННОЇ НЕБЕЗПЕКИ НАФТОВИДОБУВНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ТА ЇЇ ВПЛИВУ НА ДОВКІЛЛЯ	28
1.1 Хімічний склад та фізичні властивості нафти та нафтопродуктів	28
1.2 Аналіз впливу нафтопродуктів та відходів нафтовидобувної промисловості на компоненти навколишнього середовища	30
1.2.1 Основні джерела впливу на довкілля під час експлуатації свердловин, транспортування нафти, нафтопереробки	32
1.2.2 Вплив на атмосферне повітря	34
1.2.3 Коротко- та довгострокові впливи нафтопродуктів на природні гідроекосистеми	35
1.2.4 Особливості забруднення ґрунтів нафтопродуктами	36
1.2.5 Біотестування як метод оцінки рівня фітотоксичності ґрунту	39
1.3 Відходи нафтового виробництва, ступінь їхньої небезпеки та методи поводження з ними	40
1.4 Основні та додаткові чинники, що впливають на ефективність біодеградації нафтопродуктів у ґрунті	51
1.4.1 Склад та основні показники біопрепаратів на основі мікробних ценозів	53
1.4.2 Використання рослин для ремедіації нафтозабруднених ґрунтів	56
1.4.3 Вплив добрив та меліорантів на процеси біодеградації нафти та нафтопродуктів	60
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	63
2.1 Загальна схема проведення дисертаційного	

дослідження.....	63
2.1.1 Визначення ефективної концентрації біопрепарату «Деструктор НШ»	64
2.1.2 Підбір рослинних тест-систем для комплексного аналізу фітотоксичності зразків забрудненого ґрунту	65
2.1.3 Аналіз ефективності використання добрив на основі фульвокислот	66
2.1.4 Дослідження впливу соломи у якості меліоранту на процеси біодеградації нафтопродуктів	66
2.1.5 Розробка та удосконалення основних етапів біоремедіації нафти та нафтопродуктів	67
2.2 Об'єкти дослідження та їхні основні характеристики	67
2.2.1 Характеристика нафтошламу	68
2.2.2 Склад та основні показники біопрепарату «Деструктор НШ»	69
2.3 Біоіндикація та біотестування як методи непрямого визначення ступеня забруднення ґрунту	72
2.3.1 Методика біоіндикації та біотестування	72
2.3.2 Вибір та характеристика рослин для проведення біотестування ..	74
2.4 Розрахунок фітотоксичності ґрунту	80
2.5 Метод хроматографічного аналізу для визначення ступеня біодеградації нафтопродуктів у ґрунті	81
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ	
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ	
МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ <i>BACILLUS</i> ДЛЯ БІОРЕМЕДІАЦІЇ	
НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ	86
3.1 Результати біотестування препарату на основі мікроорганізмів роду <i>Bacillus</i> з використанням редису сорту «Сора»	86
3.2 Порівняльний аналіз застосування різних рослинних тест-систем для подальшої ремедіації ґрунту	92

РОЗДІЛ 4 ЗНИЖЕННЯ РІВНЯ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ НАФТОПРОДУКТАМИ ЗА РАХУНОК КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ, ФУЛЬВОКИСЛОТ ТА МЕЛІОРАНТІВ.....	102
4.1 Результати проростання за використання фульвокислот у комбінації з біопрепаратом	102
4.2 Вплив внесення соломи у якості меліоранту на процес біодеградації нафтопродуктів	107
4.3 Хроматографічний аналіз зразків	112
РОЗДІЛ 5 РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ УТИЛІЗАЦІЇ НАФТОШЛАМІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МЕТОДИКИ БІОРЕМЕДІАЦІЇ	119
5.1 Підхід до розробки біотехнологічної методики поводження з нафтовмісними відходами	119
5.2 Основні компоненти технологічної схеми біореємедіації	122
5.2.1 Облаштування ділянки	122
5.2.2 Умови для висадження рослин та перемішування	125
5.2.3 Забезпечення цілісності та ізоляції конструкції	127
5.3 Додаткові (опціональні) складові технологічної схеми біореємедіації	127
5.3.1 Використання та рециркуляція добрив	127
5.3.2 Моніторинг системи	130
5.3.3 Контроль вологості	133
5.3.4 Температурні показники	135
5.3.5 Система аерації	136
5.3.6 Можливість повторного використання ґрунту	138
РОЗДІЛ 6 ЕКОЛОГО-ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕХНОЛОГІЇ БІОРЕМЕДІАЦІЇ	142
6.1 Соціально-економічна взаємодія	142
6.2 Практична та економічна доцільність природоохоронних заходів з використанням технології біореємедіації	146

6.2.1 Техніко-економічне обґрунтування	148
6.2.2 Екологічні субсидії	152
ВИСНОВКИ	154
ЛІТЕРАТУРА	156
ДОДАТКИ	181

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

ЗНГ – забруднений нафтопродуктами ґрунт

КМН – консорціум мікроорганізмів-нафтодеструкторів

МН – мікроорганізми-нафтодеструктори

НВ – нафтові вуглеводні

НЗ – нафтове забруднення

НПС – навколишнє природне середовище

ПАВ – полі циклічні ароматичні вуглеводні

ФЕ – фітотоксичний ефект

ВСТУП

Актуальність теми. В умовах неухильно зростаючого антропогенного тиску на довкілля, його захист від техногенного забруднення є одним із найважливіших завдань екології. Структура світового енергобалансу свідчить, що нафта займає провідне місце серед використовуваних сьогодні енергоносіїв. Згідно з прогнозами частка нафти у світовому енергобалансі в 2020 р. складає 31,3 %, а в 2050 р. може знизитися до 28 – 29 %. Але навіть після такого зниження нафта буде залишатися основним енергоносієм планети.

У ході роботи нафтопереробних заводів утворюється значна кількість забруднюючих речовин, одними з яких є нафтошламіві відходи. Кількість нафтового шламу, що утворюється на виробництві, складає приблизно 5-7 тис. т. на 1 млн. т. переробленої нафти, залежно від стану обладнання та типу нафти. Незважаючи на таку кількість відходів, на сьогоднішній день немає уніфікованого алгоритму дій при проведенні комплексу заходів, спрямованих на їх утилізацію. Серед заходів, що вживаються з метою охорони навколишнього середовища від нафтових забруднень, одним з перспективних і екологічно безпечних є метод біоремедіації ґрунтів та акваторій, заснований на здатності деяких мікроорганізмів до деструкції нафти і нафтопродуктів.

Загалом, біотехнологічний метод знезараження нафтозабруднених ґрунтів набуває все більшого поширення і застосування завдяки своїм перевагам перед фізико-хімічними методами. Висока ефективність розкладання нафтових вуглеводнів різними штамами бактерій пояснюється здатністю конкретного живого організму включати ці речовини в метаболічні процеси. Одним з обмежуючих чинників застосування даної технології із використанням мікробних ценозів є висока токсичність нафти та нафтошламів, гідрофобність та низька біодоступність забруднювача у разі його присутності у ґрунтосуміші. Тому постійно проводяться дослідження біодеградаційних процесів вуглеводнів та вдосконалення технологій біоремедіації, до таких відносяться: підбір консорціумів бактерій, які будуть відповідати вимогам до утилізації

відходів з окремих нафтових родовищ, використання стійких до нафтового забруднення рослин, дослідження та реалізація процесів фітостимуляції та біостимуляції.

Дослідженням питання ефективності використання мікроорганізмів у технологіях біоремедіації займалися та займаються значна кількість вчених, у тому числі Аблєєва І.Ю., Кіреєва Н.А., Мальований М.С., Петрук Р.В., Пляцук Л.Д., Степова О.В., Jer N., Prabhakar M., Ramadass K., Xiaoli D. та ін. [1-15].

Також відбувається акцентування на методах, заснованих на використанні об'єднаного метаболічного потенціалу мікроорганізмів та рослин. У літературних даних спостерігається велика кількість робіт, сконцентрованих на визначенні потенціалу комплексу мікроорганізмів та висівання рослин для активізації фіторемедіації та фітостимуляції [151-170]. Однак, у багатьох наявних дослідженнях недостатньо висвітлено та розкрито ефективність фітостимуляції метаболічних процесів різними видами рослин у разі використання біодоповнення та взаємодії неаборигенних рослинно-мікробних угруповань, особливо при значному рівні забруднення нафтою та нафтопродуктами.

Особливості взаємодії полягають у тому, що при невисокій концентрації нафтошламу ґрунтова мікробіота є досить агресивною до неаборигенних мікроорганізмів, а доступність вуглеводнів (як основного джерела харчування) для мікроорганізмів є низькою, що призводить до зниження ефективності деструкції. При цьому, занадто висока концентрація пригнічує ріст рослин, знижує розвиток кореневої системи, що призводить до зниження ефекту ризодеградації (оскільки маса мікроорганізмів накопичується в основному у кореневій зоні рослини), що також призводить до зниження ефективності деструкції. Тому є таким важливим визначення максимально можливої концентрації нафти для ефективності як мікроорганізмів, так і рослин з урахуванням її токсичності, з метою отримання найкращих результатів мікробіологічної деструкції.

У зв'язку із вищезазначеним, вивчення функціональної активності нових штамів бактерій роду *Bacillus* при взаємодії із забрудненням нафтою та нафтопродуктами є важливим науковим завданням, на розв'язання якого спрямовані дослідження за темою дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано у 2019-2023 рр. на базі Національного університету кораблебудування імені адмірала Макарова відповідно до напрямків роботи кафедри екології та природоохоронних технологій за темою № ДР 0120U100038 (01.01.2020 – 31.12.2024) «Розробка заходів та технологій захисту довкілля від забруднень»; господарсько-договірною темою № 1878 «Спосіб утилізації бурових шламів методом біоремедіації» (замовник - ТОВ НВП «КАРАТ-БІО»), де автор брав участь як основний виконавець.

Мета дослідження. Метою роботи є створення комплексної технології біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів та утилізації нафтових шламів з використанням комплексу з новітнього експериментального біопрепарату на основі мікробного консорціуму роду *Bacillus* та фітостимуляції процесів деградації нафти.

Завдання дослідження. Для досягнення поставленої мети виконувалися наступні завдання:

- проаналізувати рівень техногенної небезпеки нафтовидобувної промисловості та її впливу на довкілля, розглянути основні методи утилізації відходів нафтовидобування і нафтопереробки, з'ясувати особливості методів біотехнологічної рекультивації нафтозабруднених ґрунтів;

- встановити взаємозв'язок між концентрацією дослідного біопрепарату «Деструктор НШ» на основі новітнього консорціуму мікроорганізмів роду *Bacillus* та рівнем фітотоксичності ґрунту за допомогою методики біотестування, виявити рослини, які здатні бути індикаторами до низького вмісту нафтопродуктів, але здатні адаптуватися до високих концентрацій нафтопродуктів у ґрунті;

– дослідити доцільність використання органічних добрив на основі фульвокислот для підвищення ефективності процесу біоре mediaції ґрунту та для створення комплексного препарату «БіоФульво». Провести аналіз ступеня біодеструкції та фракційного складу нафтошляму у ґрунті та допомогою методу газової хроматографії;

– визначити можливість використання рослин з метою фітостимуляції процесів нафтодеструкції. Оцінити взаємодію мікробіологічних консорціумів досліджуваного препарату, добрив, фітомеліорантів та рослин-стимуляторів у процесі біодеградації нафтошламів;

– розробити основні етапи технології біоре mediaції нафтозабруднених ґрунтів на основі результатів проведених експериментів, провести аналіз необхідності удосконалення процесів рекультивації з урахуванням особливостей використання біопрепарату у комбінації з біо- та фітостимуляцією; оцінити економічну ефективність даної технології.

Об’єкт дослідження: процеси біодеструкції та загальна ефективність використання нового консорціуму бактерій роду *Bacillus* для біоре mediaції нафтозабруднених ґрунтів та утилізації шламів.

Предмет дослідження: умови використання нового мікробіологічного препарату та біостимуляторів процесів деградації нафтошламів з метою розробки технологічних етапів процесу біоре mediaції.

Методи дослідження: вегетаційні (біотестування штучно забруднених зразків ґрунту за допомогою рослинних тест-систем), статистичні (методи математичної статистики — для аналізу і оцінки достовірності отриманих результатів) та виробничі (використання спеціалізованого обладнання для проведення газохроматографічного аналізу фракційного складу зразків).

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше:

– проведено дослідження ефективності нафтодеструкції біопрепарату «Деструктор НШ» який виготовлений на основі мікроорганізмів роду *Bacillus*,

що були ізольовані з бурового шламу Семиренківського газоконденсатного родовища на території України;

- досліджено кумулятивний ефект впливу рослин-фіторемедіантів, добрив на основі фульвокислот та препарату «Деструктор НШ» на ефективність рекультивації нафтозабруднених ґрунтів;

- запропоновано науково обґрунтовані, економічно та енергетично доцільні комплексні заходи щодо застосування протестованого біопрепарату «Деструктор НШ» у технології утилізації нафтошламу та нафтових забруднень.

Набули подальшого розвитку:

- науково-методичні підходи біотестування та біоіндикації для екологічного моніторингу територій, що знаходяться під впливом нафтових забруднень;

- методичні підходи щодо поводження з нафтовмісними відходами, зокрема, щодо використання комплексних біологічних методів обробки ґрунтосумішей з надвисокою (понад 50 г/кг) концентрацією нафтопродуктів;

- загальні підходи використання мікроорганізмів роду *Bacillus* для біоре mediaції нафтових забруднень. Встановлено, що під дією нових штамів бактерій усувається токсичність ґрунту, яка спричинена присутністю у ньому нафти та нафтопродуктів.

Удосконалено:

- методологічні основи використання рослин для фіторе mediaції та фітостимуляції процесів очищення ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами;

- технологічні етапи у системах біоре mediaції з урахуванням можливості повторного використання частини очищеної ґрунтосуміші для повноцінної утилізації та підвищення потенціалу розкладання вуглеводнів.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати взаємодії бактерій-деструкторів з нафтою та нафтопродуктами становлять самостійний науковий інтерес, а також дозволяють розглядати їх як

потенційних інтродуцентів для використання у технологіях біодоповнення та фіторе mediaції. Встановлений діапазон концентрації нафтопродуктів у замкнених системах біоре mediaції, при якому є доцільним використання добрив на основі фульвокислот для прискорення процесів мікробіологічної деструкції. Дані, отримані у ході дисертаційного дослідження було використано для створення технології біоре mediaції з розробкою комплексного біопрепарату-деструктору нового покоління «БіоФульво». Розроблено комплекс практичних заходів щодо удосконалення технології біоре mediaції з урахуванням послідовного внесення меліорантів, добрив та висівання рослин, а також пов'язані з цим необхідні зміни у системах аерації, контролю вологості та моніторингу процесів біодеградації.

Особистий вклад. Дисертація є особистою науковою працею автора. Мету та завдання дослідження визначено при безпосередній участі дисертанта. Автор самостійно зібрано, систематизовано і проведено аналіз наявних літературних даних за темою дисертації, виконано експериментальні дослідження. Планування експериментів та обговорення усіх результатів проведено спільно з науковим керівником, д.т.н, проф. Трохименко Г.Г.

Достовірність результатів. Достовірність забезпечена великим обсягом експериментів із застосуванням сучасних математичних методів обробки, аналізу та оцінки отриманих результатів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи було висвітлено у доповідях на XIV Міжнародній науково-технічній конференції «Проблеми екології та енергозбереження» (м. Миколаїв, 17 вересня, 2021 року); VIII Всеукраїнському з'їзді екологів з міжнародною участю (м. Вінниця, 23 вересня, 2021 року); II Міжнародній науково-технічній конференції «Екологія. Довкілля. Енергозбереження» (м. Полтава, 2 грудня, 2021 року); III Міжнародному науковому симпозиумі «Сталий розвиток – стан та перспективи» (м. Львів, 27 січня, 2022 року); I Міжнародній науково-практичній конференції «Подолання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022» (м. Полтава, 26 травня, 2022 року);

XIII Міжнародній науково-технічній конференції «Інновації в суднобудуванні та океанотехніці» (м. Миколаїв, 27 жовтня, 2022 року); Міжнародній науково-практичній конференції «Environment recovery and reconstruction: war context 2022» (м. Полтава, 17 листопада, 2022 року); XIV Міжнародній науково-технічній конференції «Інновації в суднобудуванні та океанотехніці» (м. Миколаїв, 21 вересня, 2023 року); XV Міжнародній науково-технічній конференції «Проблеми екології та енергозбереження» (м. Миколаїв, 21 вересня, 2023 року).

Публікації. За результатами дисертаційних досліджень опубліковано 14 наукових праць, із яких: 2 статті у наукових періодичних виданнях, що індексуються міжнародними наукометричними базами даних (Scopus та Web of Science), 2 статті у наукових фахових виданнях із переліку МОН України, 1 розділ у монографії та 9 матеріалів доповідей у збірниках праць конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Робота складається з анотації, вступу, шести розділів, висновків, списку використаних літературних джерел, що містить 239 найменувань. Загальний обсяг роботи становить 187 сторінок. Робота ілюстрована 19 таблицями та 41 рисунком.

Подяка. Автор висловлює величезну подяку та вдячність за неоціненну допомогу та підтримку науковому керівнику д.т.н., проф. Трохименко Ганні Григорівні, а також доктору філософії Колєговій Анастасії Сергіївні за консультації при проведенні досліджень та Храпку Тарасу Мефодійовичу за люб'язно надані експериментальні біопрепарати і матеріали для досліджень.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІЗ РІВНЯ ТЕХНОГЕННОЇ НЕБЕЗПЕКИ НАФТОВИДОБУВНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ТА ЇЇ ВПЛИВУ НА ДОВКІЛЛЯ

1.1 Хімічний склад та фізичні властивості нафти та нафтопродуктів

Нафта - масляниста, в'язка рідина темно-коричневого кольору, одна з найважливіших корисних копалин, що складається з вуглеводнів [16]. Нафтові компоненти прийнято розділяти на три великі групи вуглеводнів: граничні, ненасичені та ароматичні [17]. Граничні (метанові) вуглеводні найбільш прості за будовою, свою назву отримали від найпростішого вуглеводнів – метану. У професійній практиці такі вуглеводні називають алканами. Структурна формула метанового або парафінового ряду C_nH_{2n+2} , де n це число атомів (метан (CH_4), етан (C_2H_6), пропан (C_3H_8) тощо). Ненасичені вуглеводні мають структурну формулу C_nH_{2n} та іменуються алкенами чи циклоалканами. Циклоалкани складаються з декількох метиленових груп CH_2 , вони можуть приєднувати об'єднані кільця і ланцюжки метанової будови (циклопропан, циклобутан, циклопентан і т.д.). Такі вуглеводні є хімічно активними і мають значний вплив на компоненти навколишнього природного середовища (НПС), але також добре піддаються розкладанню чи, наприклад, біодеградації [18]. Ароматичні вуглеводні отримали свою назву через чітко виражені запахи. Структурна формула ароматичних вуглеводнів C_nH_{2n-m} (m – парні цифри від 6 і вище). У хімії ароматичні вуглеводні називають аренами, через циклічну будову вони хімічно малоактивні [19].

Основними елементами нафти є вуглець (83-87%) та водень (11-14%), домішки сірки до 3-7%, до 2,5-5% кисню та до 0,5-3% азоту [20]. За фізичним станом вуглеводні від CH_4 до C_4H_{10} – гази, від C_5H_{12} до $C_{16}H_{34}$ – рідини, від $C_{17}H_{36}$ до $C_{35}H_{72}$ – тверді речовини, які називають парафінами або церезинами

[21]. У невеликих кількостях у нафті присутні метали (залізо (Fe), магній (Mg), алюміній (Al), мідь (Cu), натрій (Na), олово (Sn), кобальт (Co), хром (Cr), нікель (Ni), ртуть (Pb)). Зміст металів у нафти настільки низький, що вони виявляються лише у золі після спалювання нафти [22]. За якістю нафта поділяється на класи: – за вмістом сірки: малосірчиста – до 0,5%, сірчиста – 0,6–1,8%, високосірчиста – 1,81–3,5%, особливо високосірчиста – понад 3,5%; - на підкласи за вмістом смол: малосмолиста – менше 8%, смолиста – від 8 до 28%, сильно смолиста – понад 28%; - на типи за вмістом парафіну: безпарафініста – до 1%, слабopарафініста – від 1 до 2%, парафініста – понад 2%. Гази класифікуються за вмістом у них парів бензину (у грамах на 1 м³ газу): понад 200 г/м³ – гази жирні, 101–200 г/м³ – напівжирні, 11–100 г/м³ – худі, до 10 г/м³ – сухі [23]. Оскільки нафта і нафтопродукти можуть містити велику кількість різних нафтових вуглеводнів (НВ), загальна кількість цих вуглеводнів подається як загальна маса замість маси кожного окремого вуглеводню. Фактично, їх кількість використовується як стандартний показник нафтового забруднення (НЗ) [24].

Вимірювання концентрації нафти зазвичай виконується за допомогою визначення фракцій C₉ - C₁₈, які не містять ароматичних кілець та швидко випаровуються [25]. Наприклад, концентрації НВ можна кількісно визначати за допомогою газової хроматографії, зазвичай з полум'яно-іонізаційним детектором. Цей метод вимірює НВ на основі диференціації сполук за розподілом їх точки кипіння. Незважаючи на те, що така методика не може виявити високолеткі сполуки, очікується, що ці сполуки не будуть знайдені в зразках окремих компонентів довкілля, оскільки вони мають високий рівень випаровування [26]. Газові хроматограми також можуть використовуватися для перегляду та кількісного визначення різних фракцій вуглеводнів у забруднених зразках ґрунту чи води [27].

У випадку нафтового шламу, осади, що містяться у шламі, а також асфальтени та смоли, присутні в сирій нафті – є емульгуючими агентами [28]. Створюючи емульсії, вони також створюють і міжфазну плівку. Така плівка має

високу в'язкість, яка оточує краплі води, причому їхні полярні частини спрямовані до води, а неполярні частини – до нафти [29]. Ступінь міцності емульсії важливий для нафтошламу, оскільки це впливає на його стабільність та цілісність [30]. Крім того, якщо нафтошлам має міцну та стабільну емульсію, то її спочатку потрібно розщепити і тільки тоді НВ стають повноцінно доступними для процесу біоремедіації [31, 32]. Крім того, їхня стійкість може бути посилена під час вивітрювання нафтошламів, і, отже, старий нафтошлам стає більш хімічно стабільним, зменшуючи його доступність для деградації [35].

Загалом НВ з високою молекулярною масою є генотоксичними для людини. Ця токсичність зростає з більшою молекулярною масою [34]. Важкі метали з нафтових шламів не можуть бути розкладені на менш небезпечні хімічні речовини, як органічні забруднювачі. Однак, ці неорганічні забруднювачі можуть бути перетворені зі свого токсичного стану в менш токсичні та стабільні нерухомі форми [36, 37]. Важкі метали включаються до групи потенційно токсичних елементів, якщо вони перевищують допустимі для організмів рівні [33]. Крім того, нафтові шлами можуть складатися з простих поліефірів (звичайних хімічних добавок у процесі нафтопереробки), металів та інших хімічних речовин, що утворюються в процесі переробки нафти. Цинк (Zn), хром (Cr), ванадій (V), нікель (Ni), свинець (Pb) і мідь (Cu) є основними металевими елементами, знайденими в нафтовому шламі [38]. Основні органічні сполуки включають н-алкани, парафіни, олефіни, ароматичні сполуки, бітум, феноли та поверхнево-активні речовини. Вміст металів значно нижчий, ніж вміст органічних вуглеводнів у нафтових шламах [39].

1.2 Аналіз впливу нафтопродуктів та відходів нафтовидобувної промисловості на компоненти навколишнього середовища

Нафта є однією з основних потреб людини в сучасному світі, саме тому нафтова промисловість сьогодні є однією з галузей, що найбільш динамічно

розвиваються. Постійно зростаючі обсяги видобутку, транспортування та зберігання нафти призводять до інтенсифікації забруднення земель, екологічні наслідки якого можуть бути критичними як для людини, так і для природних екосистем [40]. Загальною ознакою НЗ є велика кількість складових компонентів забруднення в кожному окремому випадку та їхня варіативність на відміну від більшості інших антропогенних забруднювачів [41].

За даними Міжнародного енергетичного агентства (2021), світове виробництво нафти становить близько 91 150 000 млн. барр. в день (14 500 000 м³ в день), і щодня утворюється 190 000 м³ нафтового шламу [42]. Діяльність з видобутку, транспортування та зберігання нафти також може призвести до утворення цих відкладень [43]. Вклад України у світове виробництво нафти складає 0,12% від загального об'єму.

Нафтове виробництво загалом складається з двох основних типів операцій, а саме видобуток та переробка. Видобуток, транспортування та зберігання сирої нафти входять до першого типу операцій, тоді як усі інші пов'язані процесами переробки сирої нафти [44]. Переробка нафти — це перетворення сировини, видобутої в процесі буріння, на продукти на основі нафти, такі як бензин, скраплений нафтовий газ, авіаційний гас, нафтовий асфальтоцемент чи дизельне пальне [45]. Переробка починається з фракціонування сирої нафти у ході процесу атмосферної дистиляції. Потім нафта розділяється на кілька фракцій, з яких в кінцевому підсумку виробляють різні нафтові продукти, такі як бензин, газ і дизельне паливо. Залишки дистилятів важких вуглеводнів обробляються під час подальшої дистиляції, яка називається вакуумною [46].

Нафтопродукти є одними з найбільш поширених та токсичних речовин на територіях, порушених внаслідок антропогенної діяльності [47]. Загроза забруднення НПС сировою нафтою та продуктами її переробки стоїть гостро не тільки для нафтовидобувних та нафтопереробних регіонів, оскільки зберігання та транспортування паливно-мастильних матеріалів, розливи нафти та нафтопродуктів внаслідок аварій, пожежі на нафтосховищах, надзвичайні

ситуації на нафтопереробних заводах несуть у собі небезпеку для будь-якого регіону [48].

1.2.1 Основні джерела впливу на довкілля під час експлуатації свердловин, транспортування нафти, нафтопереробки

За рівнем негативного впливу на НПС нафтогазовидобувне виробництво займає одне з перших місць серед галузей промисловості. Цей вплив зумовлений його особливостями, оскільки більшість робіт, пов'язаних з видобуванням та переробкою нафти несуть у собі певний рівень екологічної небезпеки [35].

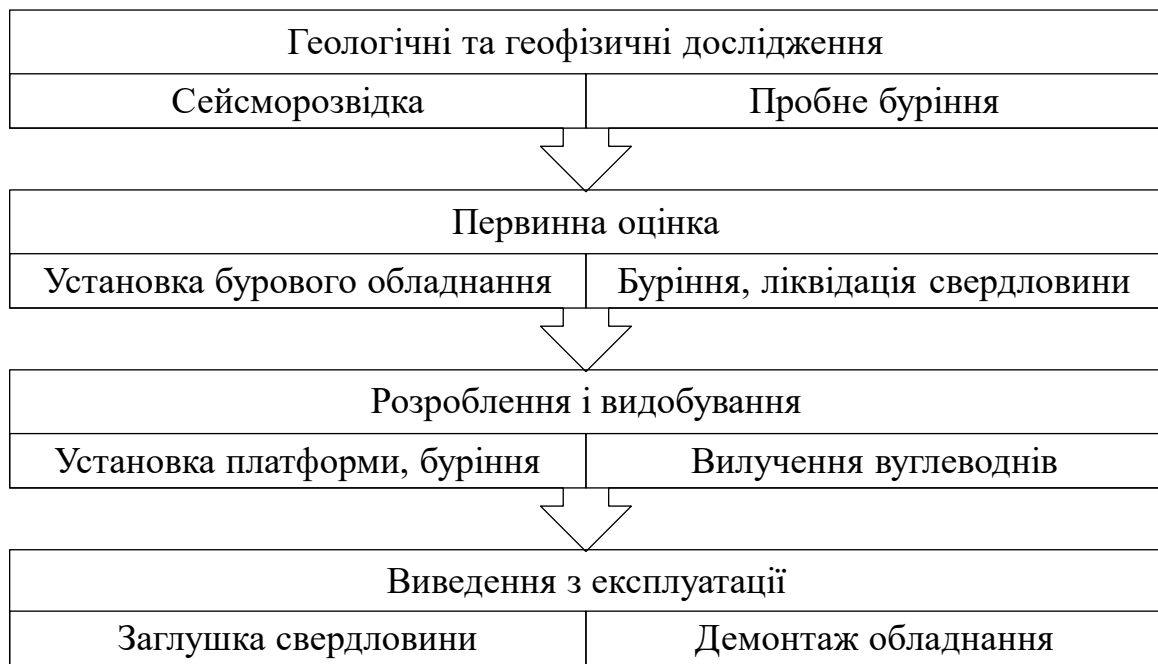


Рис. 1.1 – Структурно-стадійна схема процесу розробки нафтових родовищ

Наприклад, пошуки, розвідка та розробка нафтогазових родовищ несуть у собі зняття частини ґрунтового шару, викид в атмосферу відпрацьованих газів від ДВЗ, транспортних засобів, використання великої кількості води, що входить до складу промивної рідини [31]. Будівництво майданчика під розробку нафтогазового родовища, фізико-механічний вплив транспорту та будівельної техніки на структурні елементи приземних шарів літосфери, руйнування ґрунтів та втрата ними родючості (при спорудженні магістрального

трубопроводу на кожні 100 км траси порушується у середньому 500 га земельних угідь) [49].

Основними джерелами забруднення НПС при експлуатації систем збирання та транспорту продукції на нафтових родовищах є такі споруди та об'єкти нафтопромислів: гирла свердловин та свердловинні ділянки, трубопровідна система збору та транспорту видобутої рідини, резервуарні парки та дожимні збірні пункти, факельні установки, земляні комори, шламонакопичувачі та спеціальні майданчики [50].

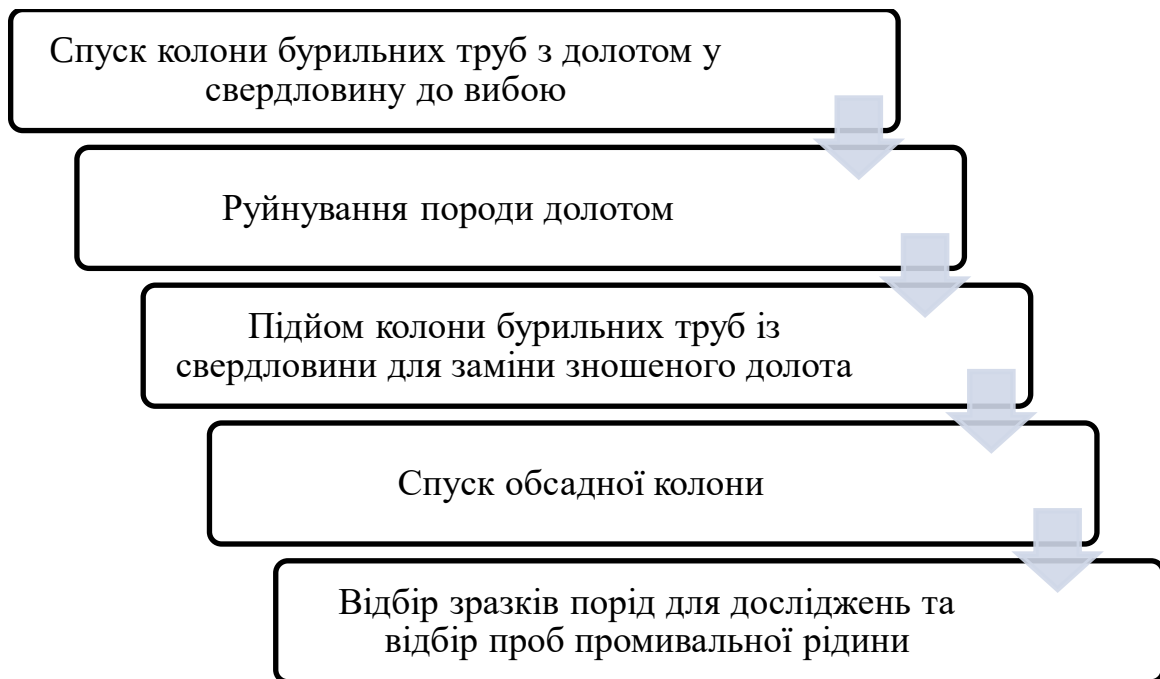


Рис. 1.2 – Опис процесу буріння свердловини за операціями [51]

У нафтовій промисловості можуть утворюватися два типи масляних відходів: прості відпрацьовані масла та нафтошлами. Відпрацьовані масла мають меншу частку води порівняно зі шламом, тоді як нафтошлам складається в основному з вуглеводнів нафти, води та осаду [52]. Ці відкладення утворюються з неорганічних мінералів у бурових рідинах, резервуарах для зберігання, а також іржі та накипу в системі трубопроводів [53]. Джерела нафтового шламу включають залишки сирової нафти з нафтових свердловин, бурові розчини та шлам, накопичений на дні резервуарів для зберігання нафти [54]. Деякі включають шлами з сепараторів нафти та води, резервуарів для зберігання очищеної нафти, установок флотації розчиненого повітря і очисних

установок [55]. Вода, що міститься в нафтовому шламi, зазвичай походить від процесів очищення та крекінгу важких вуглеводнів і може входити з розчиненими солями [56].

Згідно с описами технологічних процесів, основними джерелами утворення нафтошламів є резервуари для зберігання нафти та системи розділення нафти і води. Це одна із причин, чому донний осад нафтових резервуарів є найбільш вивченим осадом серед інших відходів нафтової промисловості [57, 58]. Найчастіше ці шлами мають високу в'язкість, тому їх видалення із дна ємності ускладнене [59]. Їхню високу в'язкість пов'язують з відділенням більш важких фракцій від сирої нафти. Такі фракції випадають в осад і змішуються з опадами та водою на дні резервуара [60].

1.2.2 Вплив на атмосферне повітря

Негативний вплив на атмосферне повітря під час пошуково-розвідувальних та експлуатаційних робіт на нафтових родовищах, транспортування нафти чи нафтопереробки полягає: в аварійних викидах нафти та газу в процесі буріння та освоєння свердловин; газопильному забрудненні при будівництві доріг та промислових майданчиків; забрудненні вуглеводнями, сірководнем, оксидами сірки та азоту при експлуатації свердловин; виділенні відпрацьованих газів транспортними засобами та двигунами бурових установок; розпиленні та розливах нафти та нафтопродуктів; втрати при випаровуванні легких фракцій нафти під час зберігання у резервуарах та виробництві при зливоналивних операціях [61]. Можуть надходити зі свердловини та виділятися з розчину такі високотоксичні гази, як, наприклад, сірководень. Є екологічно небезпечними смолоскипи, в яких спалюється не використовуваний попутний нафтовий газ [62].

Факельні установки призначені для спалювання некондиційних газів, що утворюються під час пуску, продування обладнання або у процесі роботи, подальша переробка яких економічно недоцільна або неможлива. З факельних

пристроїв, котелень, нагрівальних печей як продукти згоряння в навколишнє НПС викидаються оксиди азоту, діоксид сірки, оксид вуглецю та сажа [63].

Так, викид в атмосферу лише від роботи дизельних установок протягом року на одній буровій забезпечує викид в атмосферу до 2 т вуглеводнів та сажі, понад 30 т оксиду азоту, 8 т вуглецю, 5 т сірчистого ангідриду [64]. При згорянні нафти і газу атмосферу у великих кількостях надходить вуглекислий газ, різні сірчисті сполуки, оксид азоту [65]. Середню потужність електростанція, що працює на мазуті, викидає щодобово в НПС 500 т сірки у вигляді сірчистого ангідриду. Також при пориві газопроводу передбачено подачу газу на факел аварійного спалювання. У цьому випадку забруднення атмосфери відбувається оксидами азоту, вуглецю та вуглеводнями [62].

1.2.3 Коротко- та довгострокові впливи нафтопродуктів на природні гідроекосистеми

Унаслідок експлуатаційних робіт на нафтових родовищах відбувається забруднення поверхневих та підземних вод промивною рідиною; засолення поверхневих водойм, при самовиливі розсолів, розкритих структурно-пошуковими та розвідувальними свердловинами; порушення ізольованості водоносних горизонтів через перетікання; витік нафтопродуктів та хімічних реагентів з резервуарів та дозуючих установок; забруднення поверхневих та підземних вод паливно-мастильними матеріалами, побутовими та технічними відходами [66].

Технології кріплення свердловин у процесі буріння не є ідеальними і не забезпечують надійного роз'єднання пластів за колоною обсадної. З цієї причини відбуваються перетікання флюїдів з високонапірних пластів у низьконапірні і найчастіше знизу нагору. У результаті різко погіршується якість усієї гідросфери місцевості. При прокладанні трубопроводів через численні випадки порушення гідрологічного режиму малих річок, руйнування берегів

великих річок і водойм під час прокладання підводних переходів, забруднення їх нафтопродуктами риба йде з місць нерестовищ і гине [67].

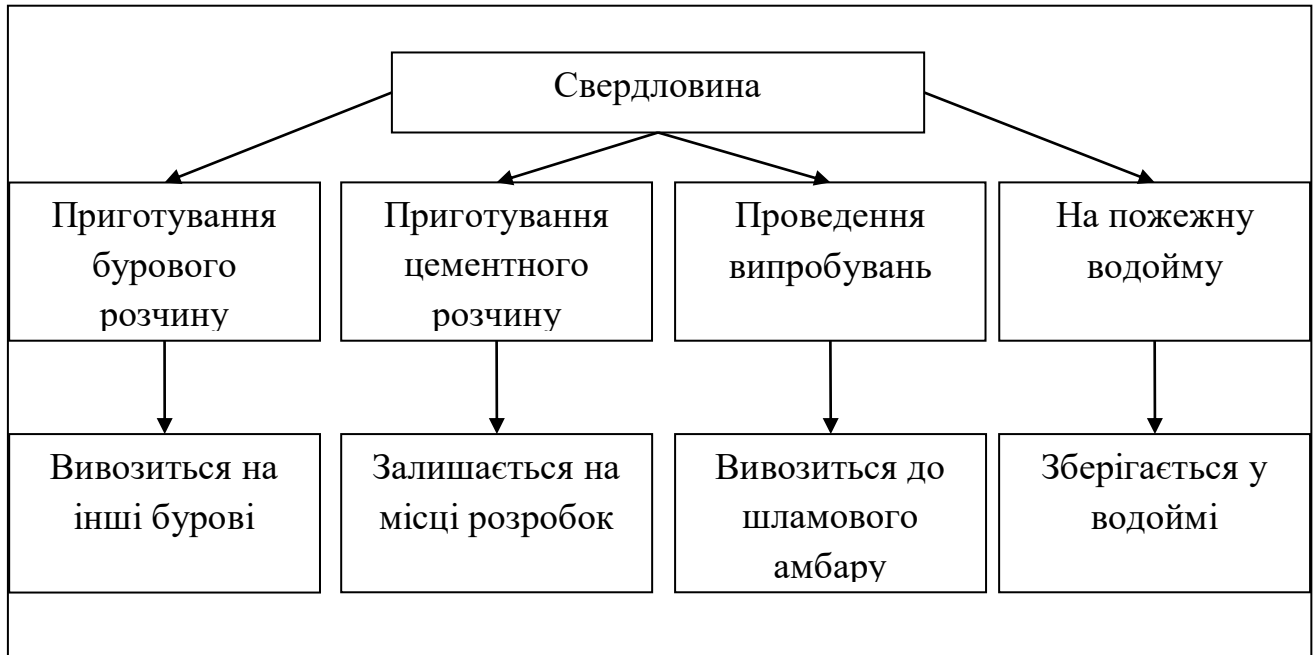


Рис. 1.3 – Схема водокористування при спорудженні пошукової свердловини при розробці нафтових родовищ

Окремо можна виділити стічні води нафтопереробних підприємств. Незважаючи на очищення, стічні води містять значну кількість похідних нафти, а саме: бензоли, феноли, алкани та алкени. Всі ці речовини мають негативний вплив на гідробіоту та водні організми, оскільки знижують концентрацію кисню у водному середовищі, що у свою чергу призводить до загибелі багатьох гідробіонтів від задухи. Також деякі отруйні речовини мають здатність до кумуляції, більш того концентрація шкідливих речовин здатна збільшуватися при переході на наступну ланку харчового ланцюга. Відмерла органічна речовина служить відмінним субстратом для бактерій, які протягом лічених місяців можуть перетворити водойми на неживі відстійники [65].

1.2.4 Особливості забруднення ґрунтів нафтопродуктами

Вплив НЗ на фізико-хімічні властивості ґрунту пов'язаний, головним чином, з обволіканням нафтою ґрунтових частинок у зв'язку з чим відбувається

сильне збільшення гідрофобності ґрунту, він втрачає здатність вбирати і утримувати воду, відбувається витіснення повітря з ґрунтових пір, і, зрештою, порушується водний та повітряний режими ґрунту [66]. У ряді робіт показано, що зростання гідрофобності та інші зміни фізичних властивостей ґрунту обумовлені важкими фракціями, а прямий токсичний ефект забрудненого нафтопродуктами ґрунту (ЗНГ) визначається легкими фракціями вуглеводнів нафти [68-70]. Крім того, у ЗНГ зменшується доступність для рослин елементів мінерального живлення: азоту, фосфору, калію, через обволікання нафтою ґрунтових частинок, що перешкоджає міграції рухомих форм живлення, а також внаслідок негативного впливу нафти на бактерії, що беруть участь у процесах кругообігу азоту в ґрунті [62, 64].

Вплив НЗ на рослини відбувається двома шляхами: безпосередньо через надходження компонентів нафти кореневим і позакореневим шляхом та включення їх у метаболізм; і побічно через зміни фізичного та хімічного складу ґрунту та порушення його біологічних характеристик [71]. Компоненти рідкої частини нафтопродуктів потрапляють в організм рослини через кореневу систему, що може спричинити мутагенні реакції або відхилення від нормального розвитку за морфологічними показниками [72].

При надходженні до ґрунту НВ, що не перевищують гранично допустиме екологічне навантаження, яке визначається максимальним обсягом і захисною здатністю екосистеми по відношенню до даного забруднювача, система здатна до самовідновлення. Механізм даного процесу заснований на залученні НВ у метаболічні шляхи окислення речовин (представників мікро- та фітоценозу) за рахунок зміни ферментативної активності [73].

Для ґрунтів існує характерна система захисту від забруднень, яка відноситься до процесів самоочищення. Провідним чинником самоочищення ЗНГ у природних умовах є біологічний фактор. У його основі лежить здатність мікроорганізмів розкладати широкий спектр органічних сполук, які є у забруднених ґрунтах. Однак, у природних умовах процес самоочищення ґрунтів

від НВ йде повільно і залежить від ступеня аерації, доступності кисню, джерел азоту, фосфору та зволоженості [76].

Мікрофлора ґрунту в природних умовах з використанням різних вуглеводнів як єдиного джерела вуглецю забезпечує здатність до росту мікроорганізмів та біодеградації нафти. Особливість цього процесу залежить від часу та стійкості до різних концентрацій нафтопродуктів [77]. При цьому взаємодія нафти і нафтопродуктів з аборигенною мікрофлорою ґрунтів залежить від їх складу, процесів міграції та перетворення. Внутрішньо-ґрунтова деструкція забруднювача включає фізико-хімічне і мікробіологічне руйнування нафти, сорбцію-десорбцію складових компонентів, їх розчинення, деградацію, утворення і руйнування емульсій [74]. Особливістю процесу такої деградації є різна швидкість перетворення окремих компонентів нафти. Сполуки, отримані в результаті хімічних перетворень вуглеводнів різних класів, входять у біогеохімічний кругообіг і утворюють органо-мінеральні комплекси [75]. Однак, в різних біокліматичних умовах процеси деструкції нафти, незважаючи на загальну спрямованість її деградації, мають свою специфіку [78]. Критеріями подібності-відмінності є такі як зменшення концентрації забруднювача з однакового обсягу ґрунтової маси за один і той самий термін чи кількість закріплених органічних продуктів метаболізму. Водночас у межах однієї біокліматичної зони процеси деградації нафти і нафтопродуктів неоднакові та в різних типах екосистем, в залежності від абіогенних факторів, таких як водневий показник чи ґрунтові особливості. Потенціал самоочищення ґрунтів залежить від властивостей самих ґрунтів та фізико-географічних умов НПС, насамперед кліматичних факторів. Чим вищий потенціал самоочищення ґрунтів, тим інтенсивніше їх відновлення і тим більше разове навантаження вони витримують [79]. Ґрунтові мікроорганізми відіграють головну роль у розкладанні не тільки НВ, таких як парафіни, ароматичні вуглеводні, а й смолисто-асфальтенових компонентів та бітумних сполук. Останні розкладаються вкрай повільно, причому різні фракції мають різну стабільність. У зв'язку з цим, як правило, основними компонентами залишкової нафти є

полярні речовини – смоли та асфальтени. Вони зберігаються протягом багатьох років або у вигляді рухомої фракції, або входять до складу гумусового комплексу ґрунтів [76].

1.2.5 Біотестування як метод оцінки рівня фітотоксичності ґрунту

Розробка екологічних нормативів стосовно ґрунтів дещо відстає від створення нормативів для інших середовищ (атмосфери, водних систем). Це пов'язано зі складністю та неоднорідністю об'єкта досліджень – ґрунт складається з чотирьох фаз: твердої, рідкої, газоподібної та біотичної. Ця властивість ґрунту, що відрізняє її від інших систем, багато в чому ускладнює нормування вмісту забруднюючих речовин у ґрунті та його адекватну екологічну оцінку [80].

Рослини є основою будь-якого біогеоценозу, і тому відхилення біохімічних, фізіологічних реакцій рослин, дуже чутливих змін умов середовища, можуть бути індикатором його стану. Відомо, що насіння здатне адсорбувати нафту, яка, у свою чергу, призводить до розвитку змін метаболічних реакцій, унаслідок чого зменшується схожість або насіння взагалі не проростає [81]. Рослинні тест-системи є досить надійними та зручними у встановленні ступеня токсичності певних забруднювачів, також вони дають змогу оцінити сумарний ефект дії різних видів забруднювачів, у тому числі для оцінки ступеня деградації ґрунтових екосистем, що зазнають різнопланового антропогенного впливу [82].

Для виявлення токсичності ґрунту застосовують фітотести, в яких рослини здатні реагувати на забруднення, які фіксуються параметрами проростання насіння, швидкістю росту коренів та пагонів, тобто виступають як показники токсичності ґрунту [71]. Фітотестування ґрунтується на чутливості рослин до екзогенного впливу хімічних речовин, що відображається на рості та морфологічних характеристиках рослин. Основними перевагами в такому випадку є: наочність, зручність і простота експериментів, повторюваність і надійність результатів, економічність та об'єктивність [83].

Загалом нині існує ряд сучасних методик оцінки токсичності ґрунту, але їх застосування зазвичай обмежене через їх високу трудомісткість та вартість [84]. При цьому ефективний і відносно недорогий підхід до оцінки токсичності ЗНГ базується на застосуванні методів біотестування з використанням тест-систем. Фітотестування спрямоване на оцінку загальної токсичної дії всього комплексу забруднюючих речовин за допомогою досліджуваних об'єктів [72].

Досить часто для визначення ФЕ ґрунтів за допомогою методики біотестування використовують показники токсичності водних витяжок із ґрунтів, що визначаються на організмах гідробіонтів [85]. Результати визначення токсичності ґрунтів та водних витяжок з них методом біотестування у деяких випадках суттєво відрізняються. Наприклад, токсичність ґрунтів, яка визначається пророщуванням насіння різних рослин безпосередньо у ґрунті, вища, ніж токсичність витяжок із цих самих ґрунтів, яка визначається на традиційних біоіндикаторах. Різниця результатів особливо помітна при забрудненні ґрунтів речовинами, малорозчинними у воді, наприклад, нафтою [86].

Але саме метод пророщування вищих рослин у забрудненому ґрунті дає найбільш чітку картину фітотоксичності при регулярному використанні біопрепарату. Взаємодія мікрофлори ґрунтів, нафтового забруднення та підбраного консорціуму МН показує більш повну картину при аналізі вегетаційного періоду тест-культур. А також в подальшому за допомогою використання більш складних методів, наприклад хроматографії, дозволяє оцінити фракційний склад ґрунту та зробити висновки, виходячи з розгорнутого комплексу зафіксованих параметрів.

1.3 Відходи нафтового виробництва, ступінь їхньої небезпеки та методи поводження з ними

Міжнародна асоціація нафтової промисловості та охорони НПС (IPIECA) класифікувала нафтові шлами на чотири типи залежно від їх вмісту. По-перше,

нафтові шлами з детергентами або промивними рідинами від миття обладнання, що використовується в процесі нафтопереробки. По-друге, нафтові шлами, що містять жир і немінеральну знежирену піну зі станцій очищення стічних вод, флотаторів, флокуляторів і водо-нафтових сепараторів. По-третє, легкі маслянисті відкладення з мінералами, отриманими з опріснювачів, і, по-четверте, важкі та маслянисті відкладення з мінералами, що виникли на дні резервуарів для зберігання та у результаті опріснення [87].

Відповідно до Закону України «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення» встановлено величину гранично допустимих концентрацій (ГДК) наступних компонентів нафтового виробництва (Таблиця 1.1) [88].

Таблиця 1.1

ГДК і групи небезпеки нафти і речовин, що входять до її складу

Найменування	ГДК, мг/м ³	Група небезпеки	Найменування	ГДК, мг/м ³	Група небезпеки
Нафтопродукти	300	4	Окиси азоту	5	2
Метан	300	4	Метилмеркаптан	0,8	2
Пропан	300	4	Ртуть	0,01	1
Бутан	300	4	Сірчана кислота	1	2
Бензол	5	2	Тетраетилсвінець	0,005	1
Метанол	5	3	Толуол	50	3
Етиловий спирт	1000	4	Діоксид вуглецю	20	4
Ацетон	200	4	Дихлоретан	10	2
Гас	300	4	Сікродень	10	2

Існують різні типи класифікацій методик поводження з нафтовмісними відходами, але, загалом, поточні стратегії обробки нафтових шламів можна розділити на дві групи: фізико-хімічні та біологічні методи. Серед фізико-хімічних методів у залежності від мети методу виділяють три підгрупи. Якщо

метою є утилізація безпосередньо нафтошламу, використовується захоронення. Друга підгрупа фокусується на зменшенні або усуненні нафтового шламу, а третя підгрупа включає методи відновлення нафти з шламу, щоб її можна було повторно використовувати. З іншого боку, основною метою групи біологічних методів є зменшення або усунення навантаження органічних або неорганічних компонентів нафтошламу. Вибір методу переробки та знешкодження нафтових шламів, в основному, залежить від кількості нафтопродуктів, що містяться у шламі [89].



Рис. 1.4 – Методи обробки нафтових відходів [89]

Захоронення – це метод, при якому нафтошлам утилізується у спеціально відведеному місці без подальшої обробки. Формально, такий варіант має застосовуватися, коли відходи неможливо повторно використати або переробити [90]. Але через те, що захоронення є найдешевшим із фізико-хімічних методів (вартість утилізації може становити близько 210–260 доларів на тону ЗНГ) застосовується воно набагато частіше [91].

Для забезпечення надійного контролю, регулювання та обмеження виділення з полігонів захоронення використовують метод захоронення у

котлованах. Такий варіант меншою мірою впливає на ландшафт і не створює небезпеки, пов'язаної зі стійкістю. Однак, він вимагає відведення вод за допомогою насосів, так як основа розташована нижче поверхні землі. Таке поховання створює додаткові труднощі для гідроізоляції бічних схилів та основи поховання відходів, а також потребує постійного контролю за дренажними системами [87, 92].

Для спалювання нафтошламів широко застосовуються печі різних типів і конструкцій: камерні, барботажні, багатоподові, обертові та печі з киплячим шаром [93]. Даний спосіб дозволяє значно зменшити кількість відходів, дає можливість утилізувати тепло, отримати замість золи керамзит, а також є економічно прийнятним і високоефективним. Але в той же час використання даного методу вимагає високих енерговитрат на додаткове паливо, великих капіталовкладень у споруди для очищення та нейтралізації димових газів [94].

Витрати на спалювання можуть становити близько 650 доларів на тону спаленого нафтошламу [91]. Вони можуть зростати для нафтошламів з високим рівнем в'язкості або високим вмістом води, тому для зниження цих рівнів необхідно застосовувати попередню обробку [95, 96].

Ще одним технологічним прийомом термічної переробки нафтошламів є процес піролізу (деструктивна дистиляція), який здійснюється при 500–550 °С, у якому виходять горючі гази та твердий залишок. Цей метод рекомендується для переробки твердих нафтошламів, що мають невисоку вологість (не більше 1-3%). Він є більш прийнятним в економічному відношенні, оскільки дозволяє органічну частину відходів не перетворювати на токсичні продукти згоряння, а використовувати як додаткове паливо для спалювання відходів [95].

Окиснювальна обробка нафтошламу полягає у використанні хімічних речовин для окислення органічних сполук до вуглекислого газу та води або перетворення осаду в неорганічні солі. Перевага цієї обробки полягає в тому, що вона не залежить від таких факторів, як зміна температури та навантаження забруднюючих речовин. Крім того, окиснені сполуки мають вищу здатність до біологічного розкладання порівняно з необробленим шламом [97]. Деякі автори

використовували цей метод у поєднанні з методами біоре mediaції, такими як біодоповнення, оскільки в теорії окиснення посилює біодеградацію НВ [98]. Подібно до інших методів, цей метод є обмеженим, коли обробляються великі обсяги нафтових відкладень, оскільки це передбачає більші витрати на процес і необхідне обладнання. Проте обладнання, що використовується, є простим в експлуатації порівняно з іншими методами обробки, такими як спалювання [99].

Капсулювання передбачає затвердіння та стабілізацію забруднень. Стабілізація означає перетворення забруднювачів у менш розчинні форми, а затвердіння зосереджено на утворенні твердої маси осаду [100]. Перевагою такого методу є висока ефективність процесу переробки нафтовмісних відходів у порошкоподібний гідрофобний матеріал, який може бути використаний у дорожньому будівництві. Однак, даний спосіб вимагає застосування спеціального обладнання, значної кількості негашеного вапна високої якості та проведення додаткових досліджень впливу на НПС гідрофобних продуктів, що утворюються [101]. Через це існує певна невизначеність щодо стабільності цих відходів у керамічних матеріалах через деякі властивості та зміни складу під впливом вивітрювання вуглеводнів, випаровування забруднюючих речовин, окиснення та осмолення сирої нафти. Крім того, деякі дослідники, а саме Monteiro S., Vieira F., Ribeiro M., виявили хімічні модифікації керамічного матеріалу внаслідок додавання нафтових відкладень. Однак, якщо керамічні блоки виготовлені з використанням приблизно 10-20% нафтошламу за вагою, блоки можуть бути хімічно стабільними. Подібна вимога обмежує можливість обробки великої кількості нафтошламів [102].

Методика центрифугування заснована на роботі відцентрових сил, під дією яких нафтошлами поділяються на три фази: вуглеводневу, водну та механічні домішки. Це дає можливість зменшити кількість відходів і повторно використовувати частину води та нафти (нафтопродуктів). Таким чином, нижній шар – це осад зі шламом і важкими вуглеводнями нафти, а верхній шар містить легкі вуглеводні [103]. Фактично необхідно попередньо обробити

високов'язкі нафтові шлами органічними розчинниками, поверхнево-активними речовинами або іншими деемульгаторами, щоб зменшити в'язкість перед центрифугуванням. Може бути використаний як комбінованого фізико-хімічного методу та вимагає спеціального обладнання (гідроциклони, сепаратори, центрифуги). Оскільки ця технологія має значний потенціал та добре комбінується з іншими методами поводження з відходами – проводяться постійні дослідження можливостей для її покращення, у тому числі відділення більш важких фракції нафти зі шламу [104].

Електродеемульсація (електрокінетичний метод) відбувається завдяки тому, що в процесі руху електричного струму крізь ґрунт здійснюються електроліз води, електрокоагуляція, реакції електрохімічного окиснення та електрофлотації [105]. Дослідження Elektorowicz M. та Nabibi S. показало, що електрокінетична обробка може видалити близько 43% легких вуглеводнів і 63% води з нафтового шламу [106]. Фактично, цей посилений ефект зневоднення завдяки електродеемульсації був описаний Yang L., Nakhla G. та Bassi A. ще у 2005-му році. Ці автори повідомили про ефективність зневоднення 56,3% у стендовому масштабі та близько 40% у великому масштабі [105].

Мікрохвильове опромінення фокусується на відділенні води від нафтових відкладень за допомогою мікрохвильової енергії, яка викликає деемульгацію [107]. Зменшення в'язкості під дією мікрохвильового опромінення призводить до руйнування емульсії та осідання крапель води [108]. За даними Mutyala S., Fairbridge C., Pare J., ця технологія має вищу ефективність у відокремленні води порівняно з гравітаційним осадженням і звичайними термічними методами, такими як спалювання та піроліз [107, 109].

Метод зневоднення (кріодеемульсація), відомий як обробка заморожуванням/розморожуванням, заснований на видаленні води шляхом поділу нафти та води під час розщеплення емульсії, температура замерзання при цьому може коливатися від -20 до -40°C [110]. Згідно з дослідженнями Lin C., He G., Li X., з нафтошламу виділяється не лише вода, а й легкі нафтові

фракції, що сприяє збільшенню глибини переробки нафти. Недолік цього методу полягає в тому, що для зневоднення нафтошламу його необхідно заморозити. Процес заморозки потребує суттєвих витрат енергії [111]. Нажаль, на сьогоднішній недостатньо відомостей про надійне застосування методу заморожування/розморожування у промислових масштабах.

Сутність флотаційного способу полягає в аеруванні суспензії бульбашками повітря. Вилучення дрібнодисперсних частинок з рідини, в якій вони знаходяться у завислому або колоїдному стані, відбувається у результаті прилипання частинок до бульбашок газу (повітря), що утворюються в рідині або вводяться до неї [112]. Наприклад, Ramaswamy B. та Kar D. проводили вилучення нафти з нафтового шламу, отриманого в лабораторії, з використанням синтетичних поверхнево-активних речовин. Максимальне вилучення нафти (60%) з нафтошламу було досягнуто з використанням високих температур, оскільки в таких умовах знижується в'язкість суспензії [113]. Система флотаційної очистки може бути оснащена системою оборотного водокористування, що значно знижує обсяги води, що використовується у технологічному процесі. До недоліків цього способу відносяться підвищені енерговитрати та обмеженість нафтошламами з низькою в'язкістю. Іншим недоліком є те, що пінно-флотаційна обробка не є ефективною для досягнення десорбції нафти, що міститься в осадах з нафтошламу. Крім того, цей метод обмежений нафтошлагом із високим вмістом води, тому для створення рідкої суспензії, яка сприяє флотації, необхідний великий об'єм води [114].

Використання біореакторів відбувається здебільшого для обробки рідких відходів (наприклад, осадів стічних вод нафти). Мікроорганізми для цього процесу зберігаються у суспендованому стані у рідкому середовищі, яке взаємодіє з нафтошлагом. Біореактори мають обертовий барабан для ефективного змішування та постійну подачу повітря [115]. Rizzo L., dos Santos M. та Soriano U. повідомили, що ця техніка ефективна для обробки стійких сполук, оскільки постійне змішування забезпечує постійний контакт мікроорганізмів із нафтою [116]. Одним із недоліків такого методу є високі

витрати, пов'язані з транспортуванням забрудненого матеріалу та будівництвом системи. Крім того, продукти біоремедіації необхідно зневоднити після обробки біосуспензії, що лише збільшує витрати на етапі після обробки [115].

Біологічне розкладання забруднювачів нафтових шламів за допомогою біодоповнення полягає в змішуванні нафтошламів у купах або осередках із ґрунтом. Після чого відбувається інтродукція природних та генноінженерних штамів-деструкторів чужорідних сполук [117]. Системі потрібна хороша аерація для посилення мікробної активності. Також використовується непроникний шар, щоб уникнути та запобігти міграції забруднень (наприклад, фільтратів) за межі системи. На відміну від біореакторів, біодоповнення не є обмеженим в обробці лише невеликої кількості нафтошламів. Але тривалість обробки може бути довшою, ніж при використанні біореакторів [118]. Частка легких вуглеводнів у нафтовій суміші сильно варіюється між різними нафтовими родовищами, починаючи від 97% за вагою у легкій нафті до всього лише 50% у важкій нафті та бітумах [119, 120]. Точний молекулярний склад сильно змінюється від родовища до родовища, але частка більшості хімічних елементів коливається у досить вузьких межах. Подібні особливості дають змогу підбирати та виділяти консорціуми мікроорганізмів для кожного окремого родовища, що, в свою чергу, забезпечує найбільшу ефективність їхньої подальшої взаємодії [121]. При цьому можуть виникнути обмеження та ускладнення, пов'язані з окремими нафтопродуктами, що входять до фракційного складу. Це можуть бути вуглеводні, які слабо піддаються окисненню, або токсичні для мікрофлори сірковмісні сполуки, представлені меркаптанами, сірководнем, сульфідами і похідними тіофена. Хоча слід зазначити, що вуглеводні, що залишилися, більш стійкі до біологічного розкладання, але інертні та малонебезпечні для НПС [120]. Загалом, витрати на дану методику становлять від 130 до 190 доларів на тонну ЗНГ [91].

У технології фіторемедіації використовується вирощування певних видів рослин на забруднених ділянках ґрунту. Для видалення переважної кількості зазначених елементів із ґрунту потрібно забезпечити кілька циклів рослинних

культур [122]. Висадження рослин на ЗНГ посилює процеси ризодеградації та ризоремедіації [124]. Ризоремедіація полягає в розщепленні органічних забруднювачів ризосферними мікроорганізмами [122]. За даними Thoma G. J., ризосфера має найвищий рівень деградації органічних хімічних речовин, оскільки коріння рослин стимулює ріст мікроорганізмів [123]. Дослідження McCutcheon S. C. та Schnoor J. L. показали, що чисельність гетеротрофних мікроорганізмів у ризосфері може бути в 100 разів більшою, ніж у масі ґрунту [124]. Таким чином, виділення коренів позитивно впливають на мікроорганізми ризосфери. Після закінчення процесу фіторемедіації рослини зазвичай збирають та спалюють. Отриманий після спалювання попіл вважається шкідливими відходами та підлягає утилізації [125].

Також є приклади поєднання методик біодоповнення та фіторемедіації. Оскільки головну роль у деградації забруднень відіграють мікроорганізми, а рослина є свого роду біофільтром, створюючи для мікроорганізмів місце існування (забезпечення доступу кисню, розпушення ґрунту). Такий метод отримав назву фітостимуляції [126].

Olson P. E. та Reardon, K. F. у своїх дослідженнях зазначають, що переваги взаємодії між рослиною та мікроорганізмами у процесі відновлення полягають у підвищенні біодоступності забруднюючих речовин, метаболізму та генетичної індукції, збільшенні мікроорганізмів-продуцентів біосурфактантів, аерації ґрунту та мікробної біомаси, а також покращенні якості ґрунту [127]. Singh, A., Ward, O. та Kuhad, R. відмічають, що фіторемедіація та біодоповнення є більш економічно вигідними та стабільними у поєднанні, ніж кожен окремо. Також сам процес очищення відбувається і поза періодом вегетації (нелітній період), але з дещо зниженою активністю [128]. Недоліком є те, що ризоремедіація може тривати кілька сезонів, тому сукцесія рослин є варіантом безперервності процесу. Недоліками біологічних способів є також те, що найчастіше важко достатньою мірою точно передбачити результат і немає повної впевненості у досягненні гарантованого ефекту [122].

Таблиця 1.2

Переваги та недоліки сучасних методів обробки нафтошламів

Методика	Переваги	Недоліки
Захоронення	- Найдешевший метод - Може забезпечити повну ізоляцію нафтового шламу в одному місці	- Можливе проникнення небезпечних сполук до НС - Необхідне використання значних площ земельних ділянок
Спалювання	- Кількість відходів зменшується до приблизно 10% від початкового об'єму - Більшість побічних продуктів це CO₂ та вода	- Необхідні високі температури (750 - 1200°C) - Високі експлуатаційні витрати та енергоспоживання - Значний потенціал забруднення атмосфери
Окиснення	- Не залежить від температури та показників нафтошламу - Продукти з високим ступенем біологічного розкладання	- Вимагає значної кількості хімічних реагентів у великих масштабах, що призводить до надмірних витрат
Капсулювання	- Затверділий оброблений шлам можна використовувати у дорожньому будівництві	- Стабільність може бути порушена через вимивання та вивітрювання нафти - Хімічна зміна матеріалу може поставити під загрозу його подальше використання
Біореактори	- Постійне змішування, яке забезпечує високий контакт мікроорганізмів із забруднювачем - Контроль адаптації мікроорганізмів	- Обмежується обробкою рідких нафтових відкладень - Необхідний етап попередньої обробки для зменшення забруднення концентрації до допустимих для мікроорганізмів рівнів
Біодоповнення	- Знижене використання енергії порівняно з іншими методами обробки - Бактеріальний консорціум може розщепити різноманітні специфічні сполуки	- Низький потенціал розкладання високостійких сполук - Необхідний етап попередньої обробки для зменшення концентрації до допустимих для мікроорганізмів рівнів

Продовження таблиці 1.2

ФітореMediaція	- Потенційна вигода від використання рослин - Невисока вартість - Рослини мають більш специфічні ферменти для перетворення, сполучення та зберігання вуглеводнів	- Тривалий період обробки - Необхідна сукцесія рослин - Зонаспецифічність - Низький потенціал розкладання високостійких сполук - Необхідний етап попередньої обробки
Фітостимуляція	- Потенційна вигода від використання рослин - Можливість одночасно обробляти велику кількість нафтошламу	- Тривалий період обробки - Необхідна сукцесія рослин - Зонаспецифічність - Потрібна ізоляція території
Центрифугування	- Не потребує додавання хімічних реагентів	- Не дозволяє відділити важкі фракції нафти - Необхідне попереднє оброблення деємульгаторами
Піроліз	- Може бути використано як для зменшення об'ємів нафтошламу, так і для відновлення нафтопродуктів до товарного стану	- Потрібні високі температури (500-1000°C) - Значні матеріальні та енергетичні витрати - Необхідне попереднє зневоднення
Електро-деємульсація	- Низьке енергоспоживання	- Високі витрати у великих масштабах
Мікрохвильове опромінення	- Відсутність вторинного забруднення після опромінення - Один з найшвидших методів	- Витрати можуть зрости у великому масштабі через певний тип необхідного обладнання
Заморожування/розморожування (кріоде-емульсація)	- Високий коефіцієнт зневоднення ($\geq 90\%$)	- Метод може займати багато часу (в залежності від регіону) - Значні енергозатрати
Пінна флотація	- Проста у реалізації методика - Невисока вартість порівняно за іншими методами зі схожими рівнями енергозатрат	- Обмежується нафтошламами з низькою в'язкістю - Неефективна обробка при десорбції нафти з осадів - Необхідна попередня обробка для зменшення в'язкості та частинок осаду

Хоча значущість усіх вищезгаданих способів очищення ґрунтів важко переоцінити, зазначимо, що більшість методів мають обмеження у застосуванні, пов'язані з типом ґрунтів та порід, видом та інтенсивністю забруднень, температурними і погодними умовами. Інші недостатньо ефективні або у своїй основі є не очищенням, а локалізацією та консервуванням забруднень (механічні способи). Деякі методи досить ефективні, але наслідком їх застосування є зміна властивостей і структури нафтошламу.

1.4 Основні та додаткові чинники, що впливають на ефективність біодеградації нафтопродуктів у ґрунті

Багато експериментальних досліджень з мікробіології нафти є результатом піонерської роботи Клода Зобелла. Починаючи з 1930-х і до кінця 1970-х років, у дослідженнях Зобелла показано, що бактерії є важливими в ряді процесів, пов'язаних з нафтодеструкцією [33]. Нині відомо, що вуглеводні в НПС можуть розкладатися переважно бактеріями, водоростями, дріжджами та грибами. Незважаючи на те, що ці організми в наземних і водних екосистемах поширені повсюдно, кількість гетеротрофних мікроорганізмів, які можуть утилізувати вуглеводні, дуже незначна [130].

У результаті обробки НЗ біопрепаратами-нафтодеструкторами в НПС залишаються легкорозчинний бактеріальний білок, який не потребує подальшої утилізації, і нетоксичні продукти розкладання нафти. Продукти життєдіяльності бактерій є низькомолекулярними сполуками, а самі бактерії відмирають, даючи основу для формування гумусу (при використанні препарату для очищення ґрунту) або утворюючи донний мул (в разі застосування у воді) [98].

Такий підхід мікробіологічної рекультивації ЗНГ зазвичай застосовують у тих ситуаціях, коли природні спільноти мікроорганізмів не в змозі впоратися з кількістю нафтопродуктів, присутніх у екосистемі [131]. При цьому на практиці застосовуються біопрепарати на основі як одного штаму, так і штучно

створених асоціативних культур нафтоокисних бактерій (консорціумів). Найбільш ефективними є біопрепарати, розроблені на основі мікроорганізмів, виділених із нафтозабруднених об'єктів, що включають різні фізіологічні та таксонометричні групи бактерій. Цей підхід зазвичай виправданий, оскільки внесення невластивої для екосистеми мікрофлори у складі біопрепаратів пригнічується саме аборигенними популяціями бактерій та мікроміцетів техногенних екосистем [132].

На підставі результатів багатьох експериментів встановлено, що для підвищення ефективності біодеградації доцільно використовувати змішані культури, що складаються з двох і більше мікроорганізмів. Чітких критеріїв складання штучних асоціацій нафтодеструкторів досі не вироблено, і до складу біопрепаратів включають штами, відібрані за принципом їх сумісності та високої нафтоокисної активності [133].

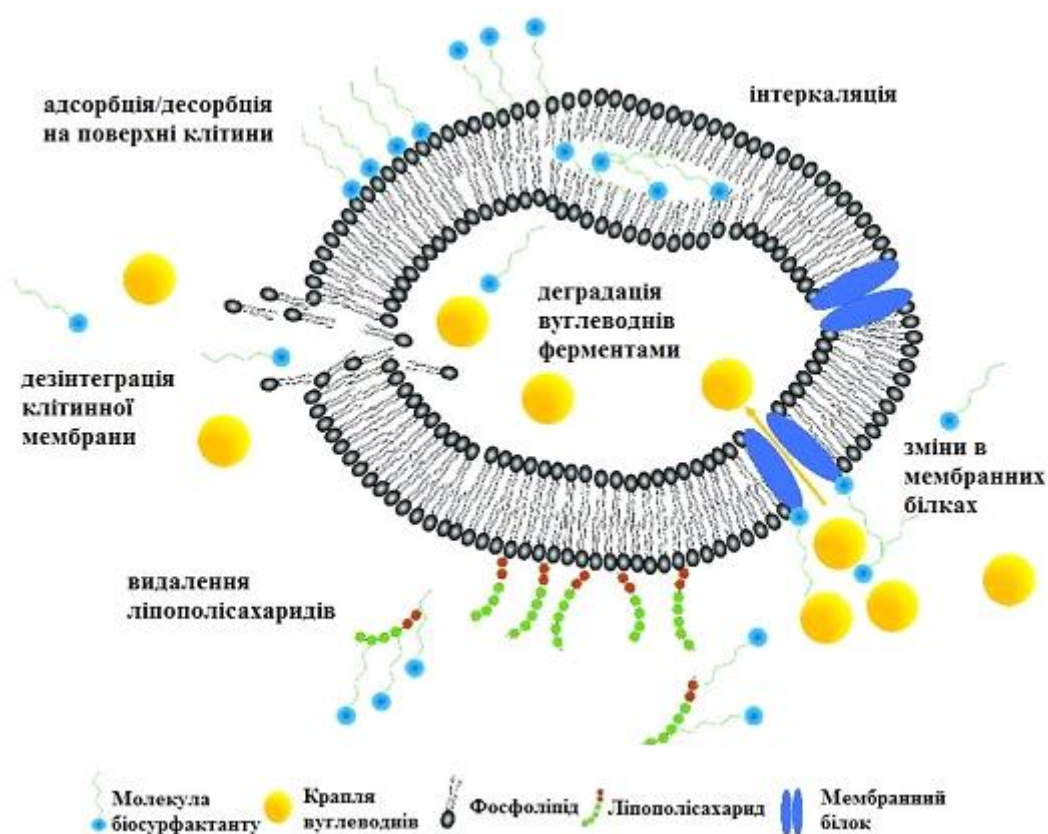


Рис. 1.5 – Основні взаємодії між вуглеводнями та ферментами МН [134]

Процеси акумуляції, трансформації та деградації НВ рослинами та мікроорганізмами активно вивчаються як для оцінки ризику, так і для пошуку природних механізмів детоксикації та деградації антропогенних забруднювачів.

1.4.1 Склад та основні показники біопрепаратів на основі мікробних ценозів

До найбільш продуктивних бактерій у цьому контексті належать: *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus* та *Mycobacterium* [135]. Висока ступінь резистентності цих мікроорганізмів є одним із основ їх використання в біоремедіації. Зокрема, на прикладі *Rhodococcus* показано, що цей мікроорганізм здатний окислювати вуглеводні та поглинати продукти розпаду, тим самим покращуючи ріст рослин за рахунок поглинання забруднювача з ґрунту. Крім того, Dhiraj K. C. у своїх дослідженнях показує, що внесення до ґрунту *Rhodococcus* збільшує наявність поживних речовин, вміст хлорофілу та білка [136].

При використанні створеного на основі природного консорціуму мікроорганізмів-нафтодеструкторів (КМН) *B. brevis* та *Arthrobacter sp.* біопрепарату «Ленойл» зменшувався фітотоксичний ефект (ФЕ) нафтозабрудненого вилуженого чорнозему при його рекультивації на спеціально виділеній ділянці [137]. Ремедіаційна здатність мікробного консорціуму пов'язана як зі зниженням вмісту у ґрунті залишкових вуглеводнів, так і з перерозподілом видів у комплексі ґрунтових мікроміцетів у бік зменшення питомої ваги фітотоксичних форм [138]. Було виявлено, що біопрепарат у ЗНГ може використовувати ароматичну фракцію, тоді як мікрофлора під його впливом активно руйнує парафіново-нафтові вуглеводні нафти. Його інтродукція сприяє деградації ширшого спектра вуглеводнів нафти [137].

Також в Україні запатентований спосіб очищення ґрунту від нафти за допомогою препарату «Родобел-Т» [139]. Цей препарат є асоціацією таких мікроорганізмів як *Acinetobacter* та *Arthrobacter*. Консорціум представлений у

цьому біопрепараті є гідрофільним та літофільним, що забезпечує можливість його дії на межі водно-нафтового шару та в товщі забруднювача. У патенті зазначено, що мікроорганізми які входять до препарату, виділені із природи, непатогенні та нетоксичні. Там не менш, одним із недоліків використання в біоремедіації виділених і відселектованих культур та гетеротрофних мікроорганізмів є те, що вони мають відносно вузький спектр біогеохімічних функцій. У той же час природні спільноти мають ширший набір цих функцій, оскільки включають представників декількох трофічних рівнів.

У даний час встановлено, що бактерії роду *Mycobacterium* здатні розселятися усюди, де в ґрунті є газоподібні або рідкі вуглеводні. Вони грають значну роль у знищенні висхідного потоку вуглеводневих газів над газоконденсатними родовищами, оскільки окислюють метан та його гомологи. Найбільш активно утилізуються вуглеводні з прямим ланцюгом, н-парафіни з довжиною ланцюга $C_{12}-C_{22}$. Залежно від умов, вони розкладаються на 10-90% протягом 1-2 місяців, але лише за початкового сумарного вмісту нафтовуглеводнів не більше, ніж 0,5% [140].

Швидкість очищення ґрунту збільшується і у випадку введення різних типів бактерій роду *Azotobacter*. Градова Н. Б. та Горнова И. Б. довели, що ці бактерії здатні поглинати вуглеводні нафти як єдине джерело вуглецю та енергії як у присутності зв'язаного азоту, так і при додатковому його внесенні. Крім того, *Azotobacter* здатен активізувати відтворення аборигенних бактерій, які входять до складу мікрофлори сірих лісових ґрунтів. Як результат, автори рекомендують використання *Azotobacter* для підвищення ефективності рекультивації ЗНГ [141].

У досліді Коршунової Т.Ю. показано консорціум, виділений із сірого лісового ґрунту, забрудненого дизельним паливом, що складається зі штамів *Acinetobacter sp.* ІБ ДП-5.1/1 та *Chrobactrum sp.* ІБ ДТ-5.3/2, має високу окисну активність по відношенню до НВ різної будови, нафти та її фракцій і добре зарекомендував себе в модельних експериментах з ремедіації забруднених мазутом ґрунтів з території розробки нафтових родовищ [142].

При проведенні поглибленого аналізу процесів біодеструкції вуглеводнів чорнозему звичайного на території України, а саме в автономній республіці Крим, для біоремедіації та утилізації НЗ на нафтогазовому родовищі ділянки «Глибока» були використані препарати на основі *Rhodococcus erythropolis* та *Pseudomonas putida* [143].

Філонов А. Є. у своїх дослідженнях показав що плазмидовмісні бактерії штаму *Pseudomonas* здатні розкладати поліциклічні ароматичні вуглеводні (П АВ). Також під час моніторингу проростання насіння ячменю указані бактерії ефективно захищають рослини від фітотоксичного впливу вуглеводнів нафти [144].

Sanchez O., Diestra E. та Esteve I. встановлено, що консорціум утворений на основі штаму *Pseudomonas* з присутністю азотофіксаторів близьких до *Rhizobium* та *Agrobacterium* здатний рости у присутності неочищеної нафти та розкладати її компоненти. Це означає, що, принаймні, деякі бактерії консорціуму здійснюють азотфіксацію, тоді як основа біопрепарату забезпечує розкладання вуглеводнів [145]. Наприклад, при внесенні у забруднений ґрунт нарощеної біомаси природних біопрепаратів з домінуванням *Pseudomonas* ефективність очищення ґрунту від нафтопродуктів за 30–90 днів доходила до 100% при концентрації нафтопродуктів не вище 1-2%. Активізація діяльності спільноти та інтенсифікація процесів деструкції забруднювача залежала не від внесеної біомаси, а від числа внесень, тому що з будь-якого поливу утворюється одна зона заростання, поширення якої не залежить від початкової біомаси [144].

У дослідженнях Горленко М. В. показано також, що ціанобактеріальні біопрепарати з домінуванням *Phormidium tenuissimum*, *Synechocystis minuscula*, *Synechococcus elongates*, виділені з техногенних екосистем, при внесенні в комплексі з мінеральними добривами до ЗНГ активізують процеси деградації нафти [146].

Chun-Xiao Liu та Qiu-Man Xu була отримана висока ефективність біодеградації з використанням органічних добрив та консорціуму *Bacillus*

clausii t. та *Bacillus amyloliquefaciens* hm61. Ефективність біодеструкції становила 76,6% та 88,9% відповідно, що було кращим, ніж ефективність чистої культури *Bacillus clausii* t. У цій роботі нафтопродукти видалялись переважно за допомогою біотрансформації, а не поглинанням та гідролізо. Також автори стверджують, що використання даного консорціуму зменшувало цитотоксичність дослідженого субстрату, оскільки загальна токсичність продуктів біотрансформації була нижчою, ніж у первинних сполук. Зазначається, що деметилювання, гідроксилювання та зневоднення, ймовірно, є основними механізмами біотрансформації у даному випадку [147].

Дослідження Poulami D., Pankaj T., Lalit P. штаму *Bacillus subtilis* виявили стійкість речовини до змін рН, температури, солоності та ефективні емульгуючі властивості при взаємодії з нафтовими вуглеводнями. Навіть у напівочищеному виді біопрепарат на основі мікроорганізмів *Bacillus subtilis* не мав токсичності щодо *Lactuca sativa* (салат) або *Artemia salina* (мікрохресткові) [148]. Їхні дані показують, що використання біопрепаратів на основі бактерій *Bacillus* має значний потенціал у сферах біоремедіації та забезпечення захисту НПС від забруднюючих речовин.

Експерименти, проведені Xiaoli D., Jing L., Wenxia W., підтверджують, що мікроорганізми роду *Bacillus* здатні співіснувати з мікробною екосистемою НВ того самого нафтового родовища, з якого були виділені. При цьому вони мають підвищену здатність до біодеградації легких фракцій нафтопродуктів. Алкани, нафтени та ароматичні компоненти можуть піддаватися деградації мікроорганізмами, а легші фракції цих сполук – повністю розщеплюватися. Циклічні вуглеводні складають більш важкі фракції, які стійкі до подібного бактеріального впливу [149].

1.4.2 Використання рослин для ремедіації нафтозабруднених ґрунтів

Виявлення ефекту підвищеної біодеградації полутантів у кореневій зоні послужило приводом для об'єднання зусиль фізіологів рослин і мікробіологів у розробці біотехнології фітостимуляції - використання рослин та асоційованих з

ними мікроорганізмів для оздоровлення ґрунту. Переваги такого типу біоремедіації як економічно вигідної, екологічно безпечної та естетично привабливої біотехнології відновлення забруднень показані багатьма дослідниками [150]. Рослинно-мікробні асоціації та симбіози, що мають гнучкий метаболізм і унікальні ферментативні системи, мають великі переваги при перебуванні у несприятливих умовах НПС, обумовлені не тільки підвищеною толерантністю до ксенобіотиків, але й здатністю до активного видалення токсикантів.

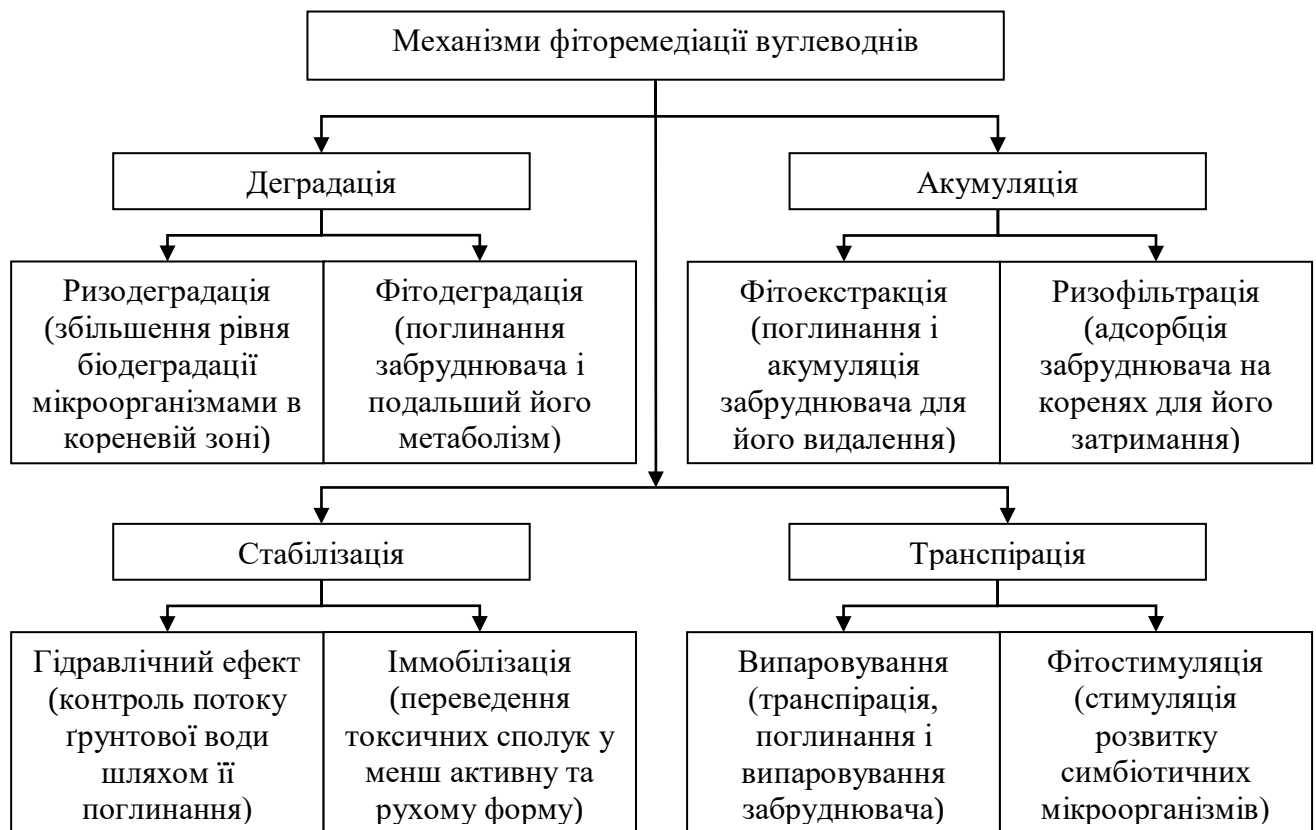


Рис. 1.6 – Вплив рослин на процеси у ЗНГ

У таких асоціаціях багато дослідників пропонують використовувати трав'янисті рослини родини Злакових (*Gramineae*) [151-153]. У таких пропозиціях зазначається, що важливою перевагою цих трав є їх розгалужена та волокниста коренева система, яка у порівнянні з іншими видами має значну площу поверхні коріння і при цьому може глибоко проникати у ґрунт, що сприяє процесам ризодеградації. Позитивний вплив у даному випадку пояснюється тим, що розвинена коренева система збагачує ґрунт біологічно

активними сполуками у процесі життєдіяльності рослини та сприяє поліпшенню газоповітряного режиму. Подібні процеси стимулюють ріст мікроорганізмів як аборигенної, так і внесеної мікрофлори, що інтенсифікує розкладання нафти та нафтопродуктів [154].

Також, у літературних даних згадується про високу стійкість до НЗ у рослин з видовженою кореневою системою. Експериментально доведено, що такі рослини, наприклад Сорго віничне (*Sorghum technikus*) чи Суданська трава (*Sorghum drummondii*), приживаючись у ЗНГ, оптимізують його рН, покращують доступність елементів мінерального живлення та сприяють функціонуванню МН. В експериментах Терек О. І. та Цайтлер М. Й. показано, що впродовж 2-ох місяців росту *Sorghum technikus* на ЗНГ з концентрацією нафтопродуктів 5 г/кг концентрація політантів зменшувалася на 6-7% [155, 156].

Окремі дослідження [157, 158] також проводились з використанням рослин родини Бобових (*Fabaceae*) підтверджуючи їхню стійкість до НЗ, завдяки здатності фіксувати атмосферний азот, забезпечуючи себе необхідною кількістю мінералів, незважаючи на забруднення ґрунту [159]. Ще одним чинником стійкості називають симбіотичні мікроорганізми бобових *Rhizobium*, які наряду з азотофіксувальними можливостями рослини здатні розкладати вуглеводні нафти і використовувати їх як джерело мінеральних речовин [160]. Adam G. та Frick C. встановлено, що використання Бобів кормових (*Vicia faba* L.) здатне підвищити ступінь очищення навіть сильно забруднених нафтою ділянок, протягом часу знижуючи їх ФЕ, забезпечуючи ріст і розвиток іншої рослинності усього за один вегетаційний період. Також повідомляється про підвищення ефективності у разі додаткового внесення мікробіологічних препаратів, органічних чи мінеральних добрив [160, 161].

Для ремедіації ЗНГ також широко використовується Люцерна посівна (*Medicago sativa* L.), у літературі вказують на її стійкість до нафти, розвинену кореневу систему, яка збагачує ґрунт азотом, тому є ефективною підсівною

рослиною для травосумішей. Також згадується, що у ризосфері *Medicago sativa* створюються сприятливі умови для розвитку МН [163, 164].

Також у літературі вказується на те, що коріння деяких рослин пасльонових, бобових та злакових беруть участь в детоксикації і деградації забруднювача, оскільки виділяють достатню кількість оксидоредуктаз [165]. Kaimi E. та Gramms G. показали, що при використанні Дягеля (*Archangelica officinalis*), Райграсу (*Arrhenatherum*) та Конюшини червоної (*Trifolium rubens*) для ремедіації забрудненого нафтовими вуглеводнями ґрунту, рослини стимулюють активність ґрунтових ферментів, що беруть активну участь у розкладанні ґрунтової органіки [166, 167].

У деяких роботах вказано на можливість використання Гірчиці польової (*Sinapis arvensis*), Стоколоса (*Bromopsis intermis*) і Чорнобривців (*Tagetes erecta*) у якості рослин для фіторемердіації чи підсіву у більш комплексних технологіях біоремердіації ЗНГ [168]. Соя (*Glicine hispida Maxim*) також відноситься до рослин, які здатні сприяти оздоровленню ґрунтів від НЗ [169].

Досліджуючи здатність вибірки рослин рости на штучно забрудненому нафтопродуктами (1 – 5 %) торф'яному субстраті, Telysheva G. та Ting Y. P. встановили, що толерантними до нафтового забруднення є Кукурудза звичайна (*Zea mays*), Тимофіївка лучна (*Phleum pratense*), Овес (*Avena*) та Люпин (*Lupinus*) [170, 171]. Однак, майже немає інформації про їхню придатність для очищення деградованих земель нафтовидобутку чи очищенні нафтошламів на спеціально відведених ділянках, про їх взаємодію зі збідненою породою різного гранулометричного складу чи пластовими водами.

Екологічні умови росту рослин (НЗ ґрунту, біоремердіація з внесенням біопрепарату) впливають на ріст і розвиток, формують неспецифічну фізіолого-біохімічну відповідь, яка виражається у зміні морфологічних параметрів, змінах продуктивності, накопиченні пігментів, вторинних метаболів, мітотичного індексу меристематичних клітин коренів, деградації хромосом. НЗ ґрунту змінює структуру мікробного комплексу ризосфери рослин, в якій домінуючими стають вуглеводні мікроорганізми. Фітостимуляція нормалізує

структуру мікробного комплексу ризосфери рослин, відновлює чисельність целюлозолітиків, знижує чисельність фітопатогенних форм мікроскопічних грибів [172, 173].

При використанні технології фітостимуляції також важливо враховувати її зоноспецифічність, тобто використання рослин в одних ґрунтово-кліматичних умовах не гарантує їх успішного застосування в інших. Тому розширення спектру рослинних видів-фіторемедіантів та з'ясування закономірностей цього процесу є основою успішного поширення та застосування цієї екологічної біотехнології. Наукові дослідження рослинно-мікробних асоціацій в умовах вуглеводневого забруднення засновані на переконаності у перспективності біологічних методів обробки нафтопродуктів, спрямовані на з'ясування їх механізмів вони можуть слугувати фундаментом для вирішення нових завдань у екології.

Реалізація адаптаційного і деструктивного потенціалу рослин, а також асоційованих з ними мікробних комплексів в умовах НЗ може призводити до посилення очищення середовища, з одного боку, і зміни рослинно-мікробних взаємодій - з іншого. Взаємини рослин та мікроорганізмів у ризосфері складається з спрямованих один на одного впливів. Вплив рослин на формування мікробіоценозів у ґрунті реалізується через надання ніші для проживання мікроорганізмів (власне кореневої системи) та регулювання розвитку ризомікрофлори. У свою чергу, метаболічна активність мікроорганізмів, їх здатність до продукції біологічно активних речовин значною мірою забезпечують ріст та розвиток рослин [180].

1.4.3 Вплив добрив та меліорантів на процеси біодеградації нафти та нафтопродуктів

Згідно з літературними даними, для інтенсифікації мікробіологічної деструкції нафти можна використовувати екологічно чистий меліорант на основі торфу, оскільки він має хороші сорбційні властивості [174]. При цьому чисельність мікроорганізмів у нативному торфі може вп'ятеро перевищувати

аналогічний показник для ґрунту. Після активації торфу шляхом внесення азотно-фосфорних добрив кількість різноманітної вуглеводневої мікрофлори зростає приблизно у 100 разів, що забезпечує високий ступінь деструкції нафти за короткий термін [175].

Використання добрив, наприклад на основі органічних кислот, може покращити розвиток кореневої структури рослин, що в свою чергу призводить до підвищення ефективності ризодеградації. Зазвичай обирають такі сполуки, молекулярна маса яких досить мала, щоб проникати крізь клітинні мембрани. Це сприяє розщепленню розчинених мінеральних і органічних речовин до іонів. Органічні кислоти є відмінними провідниками вітамінів і завдяки цьому відсоток засвоєння добавок на клітинному рівні досягає 95-99% [176]. Дози підбирають такі, що не стимулюють перехід металів із ґрунту в ґрунтові води і не сприяють вимиванню поживних речовин. При помірних концентраціях основними ефектами є регуляція енергетичних і основних біохімічних процесів рослин, підвищення роботи ферментів, нормалізація обміну речовин, звільнення клітин від продуктів розпаду та токсинів. Наприклад, гумінові кислоти чи фульвокислот реагують з мінералами та розщеплюють їх на частинки розміром іонів, створюючи фульвати, найменшу можливу форму мінералів. У цій формі мінерали легко поглинаються корінням рослин і розподіляються за всіма клітинами [177].

До теперішнього часу вплив НВ на ґрунтову мікрофлору добре вивчений, проте еколого-функціональні рішення ризосферних мікробних співтовариств на НЗ продовжують вивчатися [178]. Разом з тим, особливості ризосфери як екологічної ніші (насиченість поживними речовинами, підвищена чисельність та фізіологічна активність мікроорганізмів) припускають інший характер реакцій мікрофлори на забруднення порівняно з ґрунтом без рослин. Дослідження структури та функцій мікробного співтовариства кореневої зони рослин в умовах НЗ дозволяє з'ясувати причини та наслідки підвищення деградації органічного забруднювача у ґрунті з рослинами, що лежить в основі ефекту фітостимуляції [179].

Висновки до розділу

Забруднення ґрунту нафтою має ряд негативних наслідків для екологічної рівноваги в ґрунтовій системі, а саме: відбуваються морфологічні, фізичні, хімічні та біологічні зміни характеристик ґрунту та структури ґрунтового профілю, порушення природного співвідношення між фракціями органічної речовини ґрунту. Крім того, деградація фізичної структури ґрунту впливає на здатність утримувати воду та поживні речовини, зменшуючи його здатність підтримувати ріст рослин, які можуть виступати у якості додаткової системи ремедіації забруднення.

На сьогоднішній день немає уніфікованого алгоритму дій при проведенні комплексу заходів, спрямованих на рекультивацію ЗНГ. Вибір раціональних напрямів рекультивації має з найбільшим ефектом та найменшими витратами забезпечувати вирішення завдань раціонального та комплексного використання земельних ресурсів та відповідати екологічним, господарським, естетичним та санітарно-гігієнічним вимогам з урахуванням інтересів існуючих та майбутніх поколінь.

Серед усіх розглянутих заходів, що вживаються з метою охорони довкілля від НЗ, одним із перспективних і екологічно безпечних є метод біоремедіації ґрунтів та акваторій, заснований на здатності деяких мікроорганізмів до деструкції нафти і нафтопродуктів. Одним з обмежувачів ефективності даної методики є висока токсичність нафти та нафтошламів, гідрофобність та низька біодоступність забруднювача у разі його присутності у ґрунтосуміші. Тому постійно проводяться дослідження біодеградаційних процесів вуглеводнів та вдосконалення технологій біоремедіації, до яких відносять підбір консорціумів бактерій, які будуть відповідати вимогами утилізації відходів з окремих нафтових родовищ, використання стійких до НЗ рослин, дослідження та реалізація процесів фітостимуляції та біостимуляції.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальна схема проведення дослідження

З метою дослідження ефективності використання рослин та мікроорганізмів-нафтодеструкторів (МН) для зниження фітотоксичності забрудненого нафтопродуктами ґрунту (ЗНГ) були проведені лабораторні вегетаційні дослідження з біоремедіації ґрунтів, забруднених нафтошламом у різній концентрації. У ході представленого експерименту для визначення ефективності біоремедіації були використані нафтодеструктори на основі штаму *Bacillus*, а саме *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* та *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum*. Даний консорціум мікроорганізмів має здатність розкладати вуглеводні шляхом синтезу поверхнево-активних речовини у присутності нафтопродуктів як джерела вуглецю. Біотестування проводилося у лабораторних умовах, що дало можливість виявити екологічну токсичність зразків ЗНГ, які зазнали впливу нафтодеструкторів у контрольованих та відтворюваних умовах. Дослідження були проведені на базі лабораторій НДІ екології та енергозбереження НУК. Загальна схема та основні етапи дослідження зображені на Рисунку 2.1.

Усі варіанти описаних експериментів та аналізів мали не менше ніж триразову повторюваність для забезпечення статистичної значимості результатів. Для отриманих даних обчислювали середні значення, у ході порівняння яких використовували показники стандартного відхилення та найменшої суттєвої різниці. Статистичну обробку отриманих результатів проводили при $P \leq 0,05$ за допомогою програмного забезпечення.

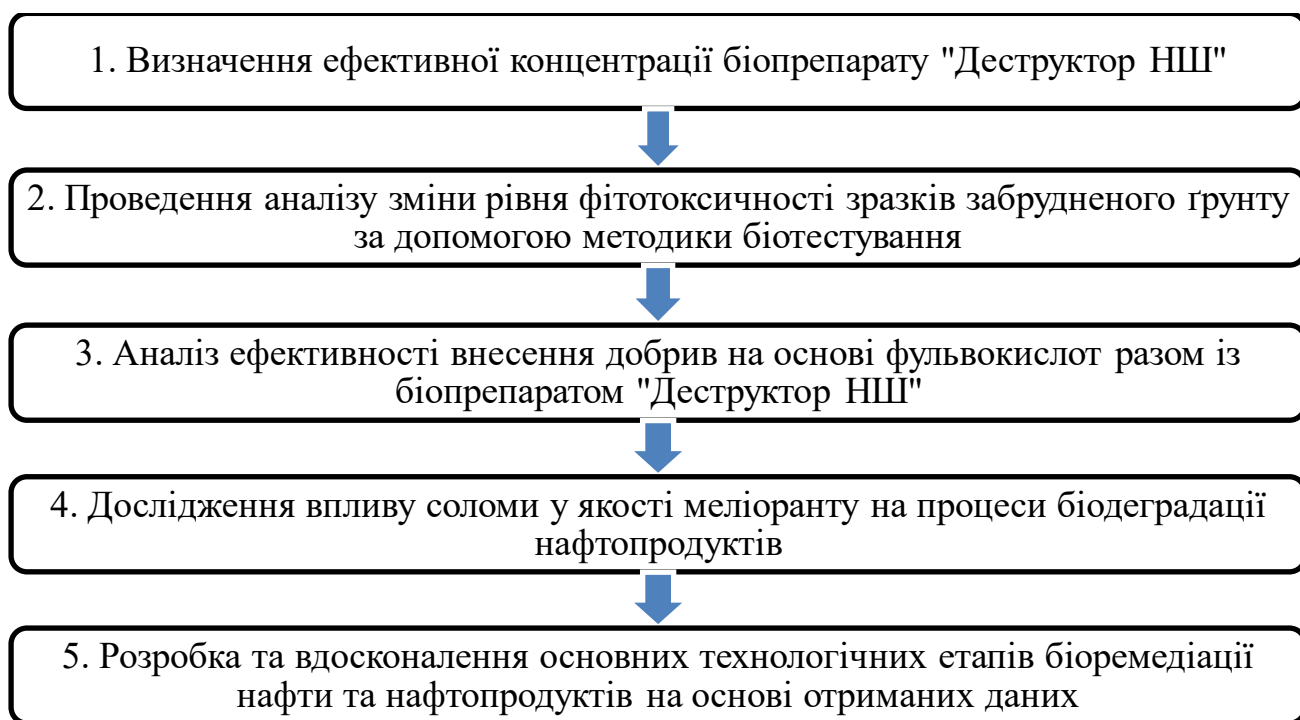


Рис. 2.1 – Етапи проведення експериментального дослідження

2.1.1 Визначення ефективної концентрації біопрепарату «Деструктор НШ»

На перших етапах дослідження для визначення токсичності ґрунту використовувалося насіння редису сорту «Сора» (*Raphanus sativus* var. *sativus*), що пов'язано з високою чутливістю насіння до токсичних речовин [181]. Використання редису у якості тест-системи проводилося у різних вибірках які відрізнялися між собою як рівнем НЗ та нафтопродуктами, так і концентрацією біопрепарату. Експеримент з насінням *Raphanus sativus* var. *sativus* як первинний етап практичної роботи виконували протягом 26-ти діб.

Експеримент проводився в однакових пластикових склянках ємністю 180 мл. Проби ЗНГ (відповідну кількість нафти вносили у ґрунт до потрібної концентрації і перемішували) в однаковій кількості поміщали у склянки, після чого вирівнювали поверхню та зволожували однаковим (5 мл) об'ємом води. Концентрація нафти у зразках дорівнювала 4%, 8%, 12% та 16% відносно маси. Біопрепарат вносився у концентрації 2% та 4%. Насіння пророщували при температурі 20-24°C. За основу оцінки токсичності ґрунту було обрано проростання рослин, висоту паростків та суху масу отриманої органічної речовини. Мінеральні добрива в ході даного експерименту не

використовувалися. Як контрольних зразок, були використанні рослинні тест-системи пророщені у зразках без забруднення та без використання біопрепарату.

2.1.2 Підбір рослинних тест-систем для комплексного аналізу фітотоксичності зразків забрудненого ґрунту

Для подальшої оцінки зміни фітотоксичності ЗНГ при стандартизованій концентрації біопрепарату використовувалися додаткові рослинні тест-системи, а саме Суданська трава (*Sorghum bicolor subsp. Drummondii*), Тимофіївка лучна (*Phleum pratense*), Козлятник (*Galega officinális*), Конюшина лучна (*Trifolium pratense*), Люцерна посівна (*Medicago satíva*) та Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*). Різноманітність використаних індикаторних рослин забезпечила комплексний аналіз результатів нафтодеструкції, а також дозволила оцінити чутливість насіння кожного окремого виду до токсичних речовин. Ці дослідження проводилися протягом 12 повних тижнів. У попередніх дослідженнях порівнювали ефективність біопрепарату у різних концентраціях. Виходячи з отриманих результатів, для подальшої роботи була обрана концентрація на рівні 4%. Саме у такій кількості консорціум мікроорганізмів *Bacillus* надавав ґрунту найкращі ростостимулюючі властивості та найбільш ефективне зниження ФЕ відносно концентрації самого біопрепарату.

Зразки ЗНГ отримувалися штучно, шляхом підготовки ґрунтосуміші зі встановленим співвідношенням незабрудненої частини та нафтопродуктів. Залежно від завдань експерименту рослини вирощували в умовах забруднення 50%, 70% та 80% концентрації нафтошламу.

У всіх експериментах з рослинами насіння попередньо калібрували та підбирали однакову кількість за масою насіння, оскільки для різних видів рослин насіння значно відрізняється. Рослини культивували у контрольованих умовах освітлення (день/ніч - 14 год/10 год), температури (24°/20°C) та відносної вологості повітря (70%), а необхідність поливу визначали зважуванням. Загальна маса кожного окремого зразка ґрунтосуміші складала

~70 грамів. Враховуючи умови НПС, насамперед температуру та освітлення (6000-9000 Люкс), полив біопрепаратом відбувався двічі на тиждень у концентрації 4%. Між поливами біопрепаратом по мірі підсушування ґрунт зволожувався простою водою.

2.1.3 Аналіз ефективності використання добрив на основі фульвокислот

Основним підходом у ході наступного експерименту було внесення мікроорганізмів у комбінації з добривами на основі фульвокислот до штучно ЗНГ для прискорення розщеплення НВ. Концентрацію добрив вносили у співвідношенні 1:500 (0,2%) та 1:100 (1%). У якості основного компоненту фіторемеднаційної системи в даному дослідженні була використана Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*). Основною причиною використання *Sinapis arvensis* стала стабільність цієї рослини у попередніх експериментах. Для підтримання та накопичення маси мікроорганізмів полив біопрепаратом та добривами відбувався двічі на тиждень.

2.1.4 Дослідження впливу соломи у якості меліоранту на процеси біодеградації нафтопродуктів

Дослідження впливу соломи як меліоранту на процес біодеградації нафтопродуктів проводилось впродовж такого ж періоду за тих самих умов НПС, як і в попередніх експериментах. Для цього за тест-системи було обрано такі рослини: Суданська трава (*Sorghum bicolor subsp. Drummondii*), Тимофіївка лучна (*Phleum pratense*), Козлятник (*Galéga officinalis*). Такий вибір рослин зумовлений їхньою стійкістю до забруднювачів, великою швидкістю росту та невибагливістю до вирощування [182]. У ЗНГ додавали солому та нафтошлам у різних концентраціях (50%, 70% та 80%), відповідно, та все ретельно перемішували. До ґрунтосуміші висаджували насіння рослин тест-систем та поливали біопрепаратом усі зразки, окрім контрольних.

2.1.5 Розробка та удосконалення основних етапів біоремедіації нафти та нафтопродуктів

Заключним етапом роботи стала розробка та удосконалення основних технологічних етапів біоремедіації нафти та нафтопродуктів, на основі узагальнення та аналізу результатів власних експериментів та значної кількості літературних даних. Методика розробки технології відштовхувалася від розуміння того, що біотехнологічна схема процесу біоремедіації повинна передбачати не лише використання біопрепарату на основі КМН роду *Bacillus*, але також добрив чи меліорантів, введених у певній послідовності, підтримки певного рівня вологості, системи аерації та пов'язаної з нею можливості введення субстратів для зміни щільності та пористості ґрунтосуміші. Згідно з отриманими результатами ефективності фітостимуляції процесів нафтодеструкції розглядалась необхідність вдосконалення етапів біотехнологічної обробки нафтошламу, оскільки стандартні технологічні схеми не розраховані на висівання рослин у системі, що також може конфліктувати зі стандартними техніками перемішування ЗНГ та встановленням покриття на ділянці для покращення контролю вологості.

2.2 Об'єкти дослідження та їхні основні характеристики

2.2.1 Характеристика нафтошламу

Серед відходів, що утворюються на підприємствах, найбільш екологічно небезпечними є нафтошлами, які є вельми стійкою трикомпонентною системою: твердо-масло-водою, стабілізованою присутністю газоподібної фази - продуктів біологічного руйнування органічних речовин [183]. У результаті природного випаровування вологи в шламонакопичувачах втрачається більш рідка частина нафтошламу і утворюється в'язка, липка паста різного ступеня пластичності [184]. Без попередньої обробки перекачування нафтошламів або транспортування майже неможливе [185]. За даними лабораторних досліджень

при вологості 30% нафтошлами є крихкою плиткою, яку можна перевозити автотранспортом. У такому стані нафтошлами не виділяють пил, мають яскраво виражені тиксотропні властивості, віддають не більше 1-3% вологи в нижчі шари ґрунту. Вологість сухого нафтошламу становить середньому 15 - 20%. Склад сухого нафтошламу практично стабільний: нафтопродукти ~ 15 - 25%; механічні домішки ~ 70 – 75%; води ~ 5 – 8%.

Для складання об'єктивного паспорту відходів, а також вибору технології утилізації нафтошламу необхідно визначити компонентний, а також груповий склад нафтопродуктів, що входять до нього, мінералізацію та вміст важких металів [186]. Склад нафтошламів складний та залежить від технологічних процесів. Як правило, вони містять нафтопродукти, воду та механічні домішки у різних співвідношеннях, як зазначено раніше [187].

Таблиця 2.1

Фізико-хімічні властивості та склад нафтошламу

Вміст нафтових фракцій, %	93% (до 98%)
Вміст залишкової води, %	7% (до 22%)
В'язкість, мм ² /с при 20 °С – 50 °С відповідно	31,97 – 27,93
Густина при 20 °С, кг/м ³	931 (885-988)
Масовий склад за фракціями, % асфальтени – смоли – парафіни	14,1 – 44,8 – 9,1
Масова частка фракцій, що википають до певних температур, % 250 °С – 300 °С – 400 °С – 500 °С	1,7 – 16,5 – 25,9 – 54,9

Склад нафтошламу тривалого зберігання зі шламонакопичувачів відрізняється від складу свіжоутвореного в результаті проходження різноманітних фізичних та хімічних процесів. При довгостроковому зберіганні нафтошлами з часом поділяються деякі шари з характерними властивостями.

Верхній шар є обводненою сумішшю вуглеводнів із вмістом до 5% колоїдних домішок і відноситься до типу емульсій другого роду. До складу даного шару входять: масла – 70-80%, асфальтени – 6-25%, смоли – 7-20%, парафіни – 1-4%. Вміст води - зазвичай 5-8% від загальної маси. Досить часто

вуглеводнева частина свіжоутвореного верхнього шару нафтошлему за складом та властивостями приблизно відповідає вихідній нафтовій рідині. Середній, шар порівняно невисокого обсягу є емульсією першого роду. Такий шар містить 70-80% води та 1,5-15% домішок. Наступний шар практично повністю утворений мінералізованою водою, густиною 1,01-1,19 г/см³. Придонний шар, що представляє собою донний мул – зазвичай тверда фаза, що містить до 45% вуглеводнів, 52-88% твердих механічних домішок, включаючи оксиди заліза; вміст води у ньому може досягати 25% [183]. Так на Миргородському нафтопереробному заводі щорічно виділяється понад 150 тонн нафтових відходів, які складаються в шламонакопичувачах нафтових комор, тим самим порушується екологічний стан регіону. Наразі у шламонакопичувачах Миргородського нафтопереробного заводу накопичено понад 1,5 тис. тонн нафтового відходу.

Нафтошлам, який використовувався в якості поллютанта у ґрунті, характеризується високою концентрацією нафтопродуктів у результаті кумуляції відходів нафтовидобувного виробництва. Тобто протестований нафтошлам не є прямим розливом нафти, як при аварійних ситуаціях, а саме відходом який утворився при будівництві нафтових свердловин, при промисловій експлуатації родовищ, переробці нафти, утилізації стічних вод, а також при чищенні резервуарів та обладнання.

2.2.2 Склад та основні показники біопрепарату «Деструктор НШ»

У ході представленого дослідження у якості нафтодеструкторів використовувався біопрепарат на основі штамів МН *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* та *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum*, що були ізольовані з бурового шлему Семиренківського газоконденсатного родовища Миргородського району Полтавської області. При цьому враховувалися фізіологічні, метаболічні та деструктивні властивості штамів, у результаті яких

скомбінована асоціація, здатна до деградації нафти та нафтопродуктів у широких діапазонах температур та рН.

Ряд дослідників вивчали особливості процесів очищення за використання біопрепаратів на основі штамів мікроорганізмів *Bacillus*. Наприклад, використання галотолерантної морської бактерії *Bacillus licheniformis* LRK-1 для перевірки потенціалу її виробництва біосурфактантів показав ефект емульгування нафти на 70%. Очищений в колонці біосурфактант аналізували за допомогою тонкошарової хроматографії та інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є, що підтвердило природу отриманого біосурфактанту у вигляді ліпопептиду. Гравіметричний метод показав 24,23% розкладання моторного масла через 21 день інкубації нафтодеструкторів [188].

Також бактерії *Bacillus sp.* успішно використовується для зниження ФЕ нафтового сірого лісового ґрунту. У дослідженнях Кім К. В. та Канг С. Ю. показано, що зниження токсичності ґрунту відбувається не лише внаслідок деградації нафти, але й завдяки зменшенню кількості фітотоксичних форм мікроміцетів, де через шість місяців інкубації їх кількість зменшується на 12–20 %, через рік - на 20–25% [191]. Висока адгезія МН, зниження поверхневого натягу, емульгуюча активність, вироблення біоактивних речовин навіть при екстремальних умовах НПС, зниження в'язкості та висока швидкість деградації вказують на ефективність даних мікроорганізмів для біодеградації НЗ [190].

Бактеріальні штами, які є основою використаного у ході досліджень препарату, мають деструктивну активність відносно вуглеводнів нафти прямих, розгалужених і циклічних структур, викликаючи в них необоротні процеси деградації до залишкових продуктів, які належать до екологічно нейтральних сполук. Препарат стійкий до хімічних речовин, що можуть забруднювати ґрунт та води, але активний тільки в кисневому середовищі й гине в анаеробних умовах, що виключає зараження ним земних надр. Опис біопрепарату наводиться у Таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Характеристика біопрепарату «Деструктор НШ»

Регіон застосування (кліматичні та ґрунтові умови)	Усі регіони України. Температурний діапазон препарату – 2-40°C; рН діапазон – 4-10
Для яких типів ґрунтів може застосовуватися	Ґрунти, забруднені нафтою та нафтопродуктами
На який рівень забруднення орієнтована технологія	При невисокій концентрації забруднення (до 50% нафтошламу) препарат можна вносити без додаткових заходів. При підвищенні концентрації (70% нафтошламу) для забезпечення ефективності є важливим внесення органічних добрив. При подальшому підвищенні концентрації необхідні заходи структуризації, відкачування вільних нафтопродуктів, перенесення на спеціальний майданчик для рекультивації.
Час, який витрачається на повне відновлення ґрунту	12-24 місяці
Технічне обслуговування	Не вимагається
Витрати препарату на місяць	Норми витрати препарату: 15-25 л/т
Вартість очищення ґрунтів	7,785 – 9,680 грн./т
Безпечність технології	Препарат не токсичний, не має канцерогенних властивостей, не є пожежонебезпечним
Гарантійний строк зберігання	1 рік при температурі 20°C

Перед основним каскадом дослідів було проведено аналіз ефективності іншого КМН щодо розкладання нафти та нафтопродуктів та зменшення ФЕ, тобто здатних до біоре mediaції ЗНГ. Було апробовано консорціум з різного числа штамів у складі якого були *Bacillus amyloliquefaciens* та *Bacillus subtilis*.

Основним підходом у ході експерименту було внесення мікроорганізмів до ґрунту для прискорення розщеплення органічних забруднювачів. Також були використанні добрива на основі фульвокислот, основною метою їх використання було підвищення ефективності мікробіологічної деструкції у кореневій зоні рослин.

Концентрація біопрепарату була обрана на основі попереднього тестування. Виходячи з результатів першої ланки експериментів, була обрана концентрація у 4 %, яка надавала ґрунту найкращі ростостимулюючі властивості, не зважаючи на НЗ. У такій кількості біопрепарат не впливав на ріст рослин та отриману масу органічної речовини. Для забезпечення стабільних процесів нафтодеструкції біопрепарат вносили у кількості, розрахованій, виходячи із сорбційної ємності зразків.

2.3 Біоіндикація та біотестування як методи непрямого визначення ступеня забруднення ґрунту

2.3.1 Методика біоіндикації та біотестування

Для визначення небезпеки забруднення об'єктів довкілля нафтою та відходами нафтової промисловості успішно застосовується методика біотестування [192]. За допомогою біотестів можна оцінити стан забруднених об'єктів, що не завжди можливо зробити хіміко-аналітичними методами з огляду на складний хімічний склад деяких забруднювачів. Хоча біотестами не вдається ідентифікувати специфічні токсичні сполуки, комбінація різних використовуваних тест-систем є показовою при визначенні екотоксичності ґрунту [193].

У ході експериментів визначення ефективності біопрепарату здійснювали з використанням стандартної методики «Ростового тесту» [194]. Його сутність полягає в обліку змін показників проростання індикаторної культури, вирощеної на досліджуваних зразках ґрунту. Визначення ефективності біодеградації проводили за допомогою рослин біоіндикаторів та їхньої реакції на забруднення ґрунтового середовища. У підготовлені ґрунти висаджували насіння рослинних тест-систем в однаковій кількості.

В екотоксикологічному аналізі досліджувалися наступні тест параметри: проростання насіння, висота пагонів, довжина коріння та маса органічної речовини. Результати фітотестування ЗНГ під впливом біопрепарату порівнювалися з результатами контролю ідентичних рослин в умовах відсутності забруднення. Потрібно зауважити, що у методиці біотестування основним параметром оцінки забруднення виступає не концентрація полютанта, а реакція та відповідь живого організму на забруднення. Перевагою біотестування токсичності забрудненого середовища є врахування впливу антагоністичних і синергічних взаємодій полютантів, оцінка сумісної біологічної активності впливу фізико-хімічних факторів на біоту [195].

У випадку нафтопродуктів найбільш інформативними даними, щодо їхньої екологічної небезпеки для ґрунтової екосистеми, є визначення фітотоксичності – здатності ґрунту чинити інгібуючий вплив на рослини, що призводить до порушення фізіологічних процесів та зниженні якості рослинної продукції [196].

2.3.2 Вибір та характеристика рослин для проведення біотестування

Суданська трава, або суданка, або сорго суданське (*Sorghum bicolor subsp. Drummondii*) – однорічна трав'яниста рослина, різновид сорго – культури родини Злакових (*Poaceae*).

Трава з прямостоячими стеблами висотою близько 1,5 метра, що утворює кущі заввишки до трьох метрів. Стебло циліндрове, заповнене губчастою паренхімою. Коренева система розвинена, мочкувата, що йде на глибину до 2,5 метрів. Платівка листа широколінійна, завдовжки 60 сантиметрів. Найбільш розвинене листя середнього ярусу. Суцвіття - багатоколоса мітла довжиною 40 сантиметрів. Плід - зернівка, щільно укладена в колоскових лусках. Маса 100 насінин 10-15 г.



Рис. 2.2 – *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* (ботанічне зображення)

Поширилося з території Судану, що відбивається у тривіальній назві. Відрізняється високою стійкістю до посухи, при цьому добре відгукується на зрошення. Не переносить надмірного зволоження. До ґрунтів не вимоглива. Добре росте на чорноземних та темно-каштанових ґрунтах, осушених торфовищах. Насіння проростає при 8-10 °С. Сходи з'являються на 4-5 день. Заморозки –3 °С гублять сходи та молоді рослини. При нестачі тепла і посіву в холодну ґрунт дає низькі врожаї і низький відсоток насіння, що визріло. Середня тривалість вегетаційного періоду 100-130 днів. Рослина короткого дня. У міжфазний період сходів-кущіння переносить затінення і тому може використовуватися як підсівна культура.

Може витримувати невелику кислотність та засоленість ґрунту. Добре відгукується на добрива, особливо азотні. Погано росте на сильно підзолистих, бідних органічною речовиною, а також на лужних та ущільнених ґрунтах. При

значному розростанні рослина здатна осушувати ґрунт та виносити значну кількість легкодоступного азоту.

Тимофіївка лучна (*Phleum pratense*) – багаторічна трав'яниста рослина з роду Тимофіївка (*Phleum*) родини Злакових (*Poaceae*).

Багаторічна нещільнокущова верхова пізньостигла яра злакова рослина, ярого, ярого-озимого типу розвитку з потужною мочкуватою кореневою системою. Стебла порожнисті, висотою від 30 до 100 см. Стебло з 3-5 вузлами, солодкуватий на смак. Листова пластинка світло-блакитного та зеленого кольору, не опушена, 3-8 мм шириною і 6-40 см завдовжки. Є листова піхва. Піхва тимофіївки лугової не замкнута, гостра, структура шорстка, дрібний язичок може бути і гострим і тупим. Лігула у верхнього листя становить 5 мм у довжину, тупокінцева.



Рис. 2.3 – *Phleum pratense* (ботанічне зображення)

Рослина довгого дня, критична тривалість дня – 12 годин. Вологолюбна рослина. Суцвіття - султан, щільна мітла у формі циліндра або конуса, верхівка округлена. Довжина суцвіття від 2 до 10 см. По всій довжині суцвіття гілочки (сидячі колоски) примикають до осі. Окремі колоски білуватого синьо-зеленого кольору, з невеликим додаванням фіолетового, лусочки на них не перевищують 4 мм у довжину, кожен розташовується окремо, край війчастий. Тичинки пурпурові.

Насіння починає проростати при температурі 1 - 2 °С, найбільш сприятлива температура для появи сходів і росту рослин - 15 - 20 °С. Маловимоглива до ґрунту, відрізняється високою зимостійкістю, переносить високу кислотність, проте на сильнокислих (рН < 5,5), легких, солонцюватих та заболочених ґрунтах росте погано. Віддає перевагу поживним, помірно зволуженим, середнім або важким ґрунтам.

Козлятник, або Галега (*Galega officinalis*) – багаторічна кореневищна трав'яниста рослина, вид роду *Galega* родини Бобові (*Fabaceae*).

Багаторічник з ярим типом розвитку та стрижневим коренем без корневих нащадків. Стебла товсті прямі та гіллясті, заввишки 80-150 см, із щільним листям. Листя непарноперисте складне, довжиною близько 15 см, з 5-10 парами лінійно-вигнутих листочків, довжиною від 1 до 4 см. Суцвіття зібрано в подовжену верхівкову багатоквіткову кисть досягає 25 см в довжину. Квітки метеликового типу, виростають з пазух верхнього листя.



Рис. 2.4 – *Galega officinalis*
(ботанічне зображення)

Добре реагує на добрива. Завдяки здатності коренів проникати глибоко у ґрунт добре переносить посуху і навіть у посушливі роки дає високий урожай зеленої маси та насіння. Віддає перевагу родючим, пухким і вологим ґрунтам.

Усі органи рослини містять алкалоїди. З насіння виділено алкалоїди галегін, лютеолін та його глюкозид галутеолін, у траві міститься алкалоїд пеганін та сапоніни, трохи гірких та дубильних речовин.

Конюшина лучна (*Trifolium pratense*) – багаторічна трав'яниста рослина, вид роду *Trifolium* родини Бобові (*Fabaceae*).

Стебла прямостоячі, висхідні і стелиться, висотою 40-65 см (у травосумішках і дослідних посівах 1 м, іноді до 2 м), товсті або тонкі, голі або слабоопушені. Кожне стебло складається з 8-10 міжвузлів розміром 10-20 см. Листя трійчасте, з яйцевидними дрібнозубчастими частками, листочки по краях цілісні, з ніжними віями по краях. Суцвіття-головки пухкі, кулясті, сидять часто попарно і нерідко прикриті двома верхніми листками. Плід - яйцеподібний, однонасінний; насіння то округле, то незграбне, то жовтувато-червоне, то фіолетове. Маса 100 насінин 1,5-2 грами. Розмножується як насінням, і вегетативно.



Рис. 2.5 – *Trifolium pratense*
(ботанічне зображення)

Корінь стрижневий або стрижнемочкуватий, що сильно гілкується, проникає в ґрунт на глибину до 2 м. Бічні сильно розгалужені мочкуваті корені розподіляються в орному шарі ґрунту. Найбільша їх кількість розташована у шарі глибиною до 10 см. Загалом глибина проникнення залежить від особливостей ґрунту, розподілу в ньому поживних речовин, вологи та залягання ґрунтових вод. Рослина довгого дня. Подовження природного дня прискорює його розвиток, а скорочення гальмує. Вибгливий до світла.

При вирощуванні його під покривом високоврожайних сортів зернових культур може спостерігатися прикореневе вилягання хлібів, створюються несприятливі умови освітлення багаторічних трав (200-300 лк). Це веде до витрати запасних поживних речовин і часто до загибелі конюшини. До ґрунтів відносно не вимогливий. Найкраще виростає на ґрунтах з глибоким орним горизонтом, проникним підґрунтям, досить багатим на органічну речовину. Добре росте на лугових алювіальних, глинистих та суглиннистих ґрунтах, нейтральній або слабокислій реакції, на багатих торфовищах.

Завдяки розвитку на коренях бульбочкових бактерій здатний збагачувати ґрунт азотом. При середньому врожаї здатний накопичувати у ґрунті до 100-150 кг азоту на 1 га. Глибоко проникне коріння конюшини здатне переводити важкодоступні сполуки фосфору і кальцію в легкозасвоювані для рослин. У чистому вигляді та в суміші зі злаковими травами сприяє створенню міцної структури ґрунту.

Вважається добрим попередником багатьом сільськогосподарських культур. У корінні після скошування надземної частини накопичується до 150 кг/га азоту.

Люцерна посівна, люцерна синя (*Medicago sativa*) – трав'яниста рослина; Типовий вид роду Люцерна (*Medicago*) родини Бобові (*Fabaceae*). Стебла чотиригранні, голі або опушені, що у верхній частині сильно гілкуються, до 80 см заввишки, можуть бути прямими, широко куцистими або лежачими. Кореневище потужне, товсте, глибоко залягає. Листя на черешках. Листочки 1-2 см завдовжки і 0,3-1 см завширшки, яйцеподібні, цілісні. Квітконоси пазушні, довші за листя. Пензлик головчастий, густий, багатоквітковий, 2-3 см завдовжки. Квітки синьо-фіолетові. Чашечка 0,5-0,6 см довжиною трубчасто-воронкоподібна, волосиста. Плід – біб, близько 0,6 см у поперечнику.



Рис. 2.6 – *Medicago sativa*

(ботанічне зображення)

Рослина росте по осипах, на сухих луках, трав'янистих схилах, на степах, на пасовищах, на узліссях, у чагарниках, на галечниках, в долинах річок, як бур'ян, у посівах і біля них. Оптимум кислотності рН 5,5-7,0. На сильнокислих та засолених ґрунтах не росте. Вибаглива до вмісту у ґрунті фосфору, калію, кальцію, магнію, бору, міді, кобальту, молібдену. Рослина вологолюбна. Вибаглива до аерації ґрунту та зрошення.

Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*) – однорічна трав'яниста рослина роду Гірчиця (*Sinapis*) родини Капустяні (*Brassicaceae*).

Стебло 10-100 см заввишки, прямостоячий, гіллястий, покритий горизонтально-віддаленими жорсткими простими волосками, в пазухах гілок часто червонувато-фіолетові плями. Листя на черешках, які у нижніх до 2-4,5 см завдовжки, у верхніх - 2-5 мм завдовжки, або вони майже сидячі; всі цілісні, яйцеподібні або довгасто-яйцеподібні, тупі або коротко загострені, нерівно гострувато-зубчасті, 2-9 см завдовжки, 15-55 мм шириною; нижнє листя черешкове, перисто-надрізане, по краю нерівномірно-зубчасте з округлою тупою верхньою часткою; верхні - сидячі, подовжено-овальні, із загостреною верхівкою.



Рис. 2.7 –

Sinapis arvensis

(ботанічне зображення)

Суцвіття - подовжена кисть, кисті спочатку укорочені (2-3 см завдовжки), щиткоподібні, потім подовжуються до 15-30 см. Квітки актиноморфні, чотиричленні. Квітконіжки 3-5 мм завдовжки, при плодах товсті, такої ж довжини. Чашолистки 4-7 мм завдовжки, лінійні, сильно відхилені; пелюстки розташовані хрестоподібно, жовті, яйцевидні, 9—13 мм завдовжки, 3,5—5 мм завширшки, звужені в нігтик, який удвічі коротший від пластинки, удвічі перевищують чашолистки.

Мінімальна температура проростання насіння 2–4 °С, оптимальна 14–20 °С. Свіже насіння проростає погано через наявність у них періоду спокою. Насіння проростає з глибини не більше 5-6 см, зберігає можливість проростання у ґрунті до 10 років.

Редька посівна, або Редька городна (*Raphanus sativus* var. *sativus*) - однорічна або дворічна трав'яниста рослина, вид роду Редька (*Raphanus*) родини Капустяні (*Brassicaceae*).

Корінь рослини потовщений, їстівний, однорічний (редис) або дворічний (редька), рідше тонкий (олійна редька), різного забарвлення - червоного, білого,

фіолетового, рожевого, чорного. Листя ліровидно-перисто-надрізані, рідше листя цілісні, верхня лопата велика, число бічних лопат від 2 до 6 пар. Пелюстки білі, рожеві або фіолетові. Стручки широкі, дещо здуті, голі або жорстко-волосисті, при дозріванні м'які, усередині губчасті, з неявно наміченими порожнинами, але не членисті. Рослина віддає перевагу перегнійному, глибокому, дещо вологому ґрунту. Посів гніздовий.

Насіння цього виду може бути використане для отримання ефірної олії. Насіння диких різновидів містить близько 48 % олії, яка може бути використана як біопаливо. Олійний різновид редьки добре культивується в районах із прохолодним кліматом [197].

2.4 Розрахунок фітотоксичності ґрунту

Фітотоксичність ґрунту – загальний показник, який може бути використаний для характеристики впливу ґрунту на рослини. Токсичні речовини, присутні в ґрунті, можуть мати негативний вплив на розвиток рослин і проростання насіння [194].

Фітотоксичність визначалася за допомогою рослинних біотестів зазначених у розділі 2.3.2.

Ефективна токсичність зразків визначалася за формулою:

$$T_{\text{еф}} = \frac{k_l + k_h}{n} \quad (2.1)$$

де $T_{\text{еф}}$ – ефективна токсичність;

k_l – коефіцієнт пригнічення довжини коріння;

k_h – коефіцієнт пригнічення висоти пагона;

n – кількість врахованих параметрів.

Коефіцієнт пригнічення проростання визначали, як відношення кількості пророслого насіння у контролі до відношення кількості пророслого насіння у досліді:

Коефіцієнт пригнічення довжини коріння відповідно за формулою:

$$k_l = \frac{l_0}{l_i} \quad (2.2)$$

де l_0 – довжина коріння у контролі;

l_i – довжина коріння у досліді.

Коефіцієнт пригнічення висоти пагона за формулою:

$$k_h = \frac{h_0}{h_i} \quad (2.3)$$

де h_0 – висота пагона у контролі;

h_i – висота пагона у досліді.

Також, для кожного окремого тестування проводили визначення таких параметрів як:

Відносна довжина коріння (l_y):

$$l_y = \frac{l_0}{l_i} \cdot 100\% \quad (2.4)$$

Відносна висота пагона (h_y):

$$h_y = \frac{h_0}{h_i} \cdot 100\% \quad (2.5)$$

2.5 Метод хроматографічного аналізу для визначення ступеня біодеградації нафтопродуктів у ґрунті

Для аналізу ґрунтосуміші торфу та вуглеводнів було застосовано газохроматографічний метод (схема газового хроматографа зображена на Рисунку 2.8). Дана методика дозволяє як ідентифікувати тип палива, забруднюючого ґрунту та води, так і оцінити його вміст [198]. Ідентифікація зводилася до виявлення у аналізованих зразках окремих піків групи компонентів без детального дослідження індивідуальних піків. Для виявлення тієї чи іншої групи важлива як загальна кількість піків на хроматограмі, так і їх розташування відносно один одного, та, крім того, співвідношення висот піків різних компонентів [199].

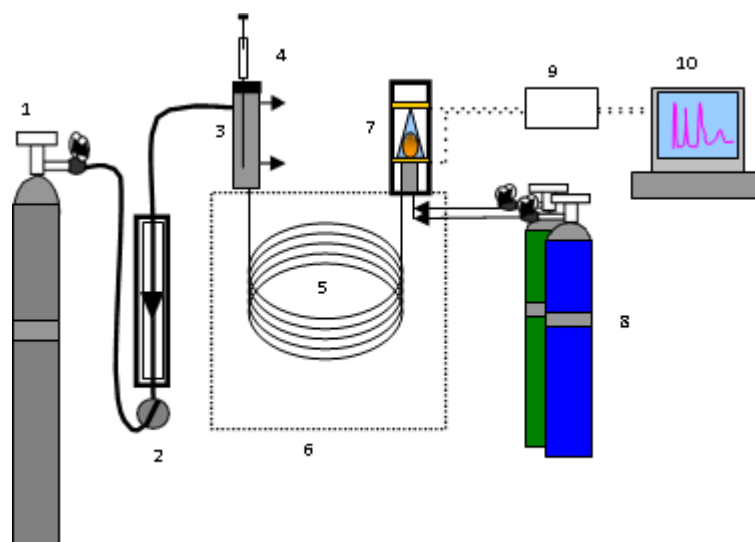


Рис. 2.8 – Схема газового хроматографа: 1 – балон з газом-носієм і газовий редуктор для регулювання; 2 – система контролю загальної витрати газу; 3 – інжекторний блок; 4 – мікрошприц з пробєю; 5 – розподільча колонка; 6 – колоночний термостат з функцією програмування температури; 7 – полуменево-іонізаційний детектор; 8 – гази для створення полум'я; 9 – цифровий перетворювач; 10 – комп'ютерна система реєстрації і обробки даних.

Таблиця 2.3

Характеристика хроматографа «ЦВЕТ-500» з полум'яно-іонізаційним детектором (ДП)

Насадкова колонка	100x0,3 см.
Газ-носіє	Аргон (Ar)
Температура термостата колонок	100 °С
Температура термостата випарника	130 °С
Температура термостату ДП	130 °С
Швидкість газу-носія	10 мл/хв.
Шкала чутливості детектора (підбирається експериментально)	128x109
Об'єм інжектування	0,4 мкл
Швидкість стрічки самописця	0,6 см/хв.
Сорбент	інертон АW-DMХС (0,16 – 0,12 мм)
Нерухома рідка фаза	карбовакс-6000 (10%)

Кількісний газохроматографічний аналіз проводили, виходячи із залежності між площею піку S і кількістю речовини у кожному окремому зразку. Розрахунок площі піку S як площі, обмеженої кривою гауса, проводили за формулою, отриманою інтегруванням гаусової функції розподілу помилок:

$$S = \sqrt{2\pi} \cdot \Omega \cdot h \quad (2.6)$$

де S – площа піку;

h – висота піку;

Ω – стандартне відхилення, що дорівнює ширині піку на висоті $h_{0,882}$ (Врахування параметра « Ω » необхідно, оскільки на практиці майже неможливо отримати ідеальну криву гауса).

Середню квадратичну похибку визначення параметра піку знаходимо через співвідношення різниці між найбільшим та найменшим значеннями низки вимірювань та статистичного фактора, що залежить від числа вимірювань:

$$S_w = W \cdot K_w \quad (2.7)$$

де W – різниця між найбільшим та найменшим значеннями низки вимірювань;

K_w – статистичний фактор, що залежить від числа вимірювань.

K_w є стандартизованою величиною, зазначеною у Таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Значення фактора K_w для розрахунку стандартного відхилення [198]

Кількість паралельних вимірювань	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K_w	0,89	0,59	0,49	0,43	0,40	0,37	0,35	0,34	0,33

Коефіцієнт варіації обчислювали за такою формулою:

$$v = \frac{S_w}{x_i} \cdot 100, \% \quad (2.8)$$

де v – коефіцієнт варіації;

S_w – середня квадратична похибка визначення параметра піку;

x_i – дані конкретної хроматограми.

Висновки до розділу

Біогеохімічний вплив нафтової промисловості на екосистеми визначається не тільки вуглеводневими компонентами нафти, але і не вуглеводними, такими як мікроелементи чи мінеральні солі. При цьому токсичність суміші вуглеводнів може бути вищою за токсичність окремих компонентів, тому важливо оцінювати наслідки впливу комплексу сполук у цілому. Так, оцінку екологічної небезпеки можна здійснювати не лише виходячи з результатів аналізу фракційного складу ґрунту чи вимірювання концентрацій нафтопродуктів, а й з урахуванням загального впливу забруднення на біоценоз, оскільки від його функціонування значною мірою залежить якість та придатність ґрунту до використання у подальшому.

Для екологічної оцінки рівня забрудненості ґрунтів використовують рослинні тест-системи, адже вони здатні об'єктивно охарактеризувати стан середовища, в якому ростуть, та по-різному реагують на дію шкідливих речовин, при цьому не обмежуючись лише нафтою чи нафтопродуктами. Загалом є відмінності в результатах оцінки фітотоксичності ЗНГ, наприклад у чашковому тесті (чашки Петрі) та у вегетаційному досліді, що пов'язано з різницею в умовах пророщування насіння та тривалістю спостережень. Через обмеження у часі чашкові тести (5-7 діб) дозволяють реєструвати лише початкові прояви фітотоксичності, а іноді і ще відсутність таких. При цьому дослідження показують, що вуглеводневий забруднювач інгібує не стільки здатність, скільки швидкість проростання насіння, що не дозволяє зареєструвати чашковий тест, в якому проростання насіння є заниженим показником, хоча і здатне демонструвати негативну залежність від концентрації. Загалом, при однаковому обсязі вибірки даних (не менше 3-х повторів для декількох видів рослин) чашкові тести будуть показувати більший розкид даних. Тому при використанні чашкового тесту в якості експрес-методу для скринінгу перспективних для фіторе mediaції видів рослин отримані дані необхідно уточнювати повноцінними вегетаційними експериментами.

Тим не менш, питання екологічної оцінки ЗНГ, з використанням рослин не є вирішеним. Продовжуються дослідження рослинних тест-систем, чутливих до НЗ, визначення стадій, на яких найдоцільніше оцінювати проростання рослин чи вимірювати ростові параметри.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ *BACILLUS* ДЛЯ БІОРЕМЕДІАЦІЇ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

3.1 Результати біотестування препарату на основі мікроорганізмів роду *Bacillus* з використанням редису сорту «Сора»

Дослідження проводилось у декілька етапів. Для визначення токсичності ґрунту використовувалося насіння редису «Сора» (*Raphanus sativus* var. *sativus*), що пов'язано з високою чутливістю насіння до токсичних речовин [181]. Використання редису у якості тест-системи проводилося у різних вибірках, які відрізнялися між собою як рівнем забруднення нафтою та нафтопродуктами, так і концентрацією біопрепарату.

Розчини концентрату МН додавались в усі зразки, окрім контрольних екземплярів. Динаміка росту рослин біоіндикаторів у різних умовах забруднення ґрунту та за різної концентрації нафтодеструкторів відображено на Рисунку 3.1 та Рисунку 3.2.

Проростання перших паростків зафіксовано в контрольних зразках на 10-11 день експерименту. У склянках з високою концентрацією нафти проростання відбулося пізніше, на 12-13 день експерименту, відразу після 4-го поливу концентратом розчину на основі штаму *Bacillus*. При цьому у ЗНГ без використання нафтодеструкторів стабільно відбуваються процеси зів'янення, паростки вище 3-4 мм не проростають.

Проаналізувавши результати, зображені на графіку (рис 3.1), спостерігаємо активне проростання насіння у контрольних екземплярах, а найповільніше відбувався ріст та розвиток насіння з додаванням 12% нафти.

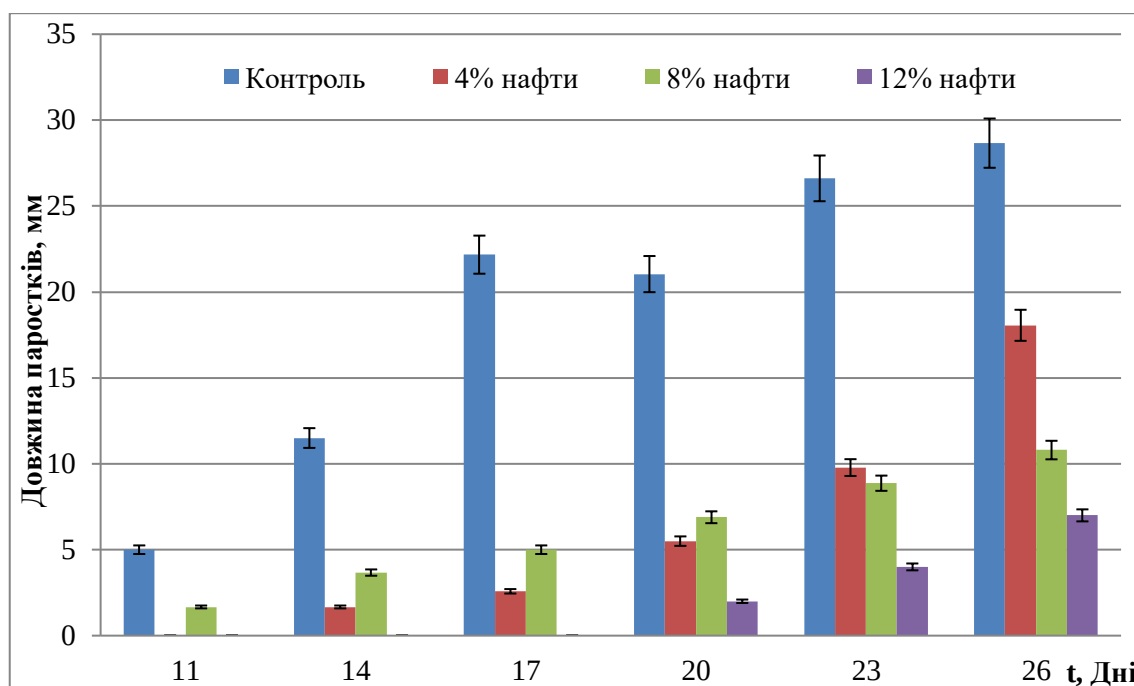


Рис. 3.1 – Динаміка росту біоіндикатора на забрудненому нафтопродуктами ґрунті при використанні 2% концентрату розчину біопрепарату

У ході експерименту встановлено, що у контрольних зразках проростання та інтенсивний ріст насіння *Raphanus sativus* var. *sativus* відбувається уже на другому тижні досліджень, тоді як у зразку зі значною концентрацією нафти (12%) ріст та розвиток проростків був незначним, поступовим та розпочався лише на 17-й день експерименту. Ріст у зразках забруднених нафтопродуктами був досить повільним, що дає змогу зробити висновки про негативний вплив нафтопродуктів на ріст та розвиток насіння, та недостатній вплив 2% концентрату розчину МН. Процеси зів'язання в умовах НЗ відбувалися навіть при використанні біопрепарату нафтодеструкторів, але кількість зафіксованих випадків, у порівнянні з контрольною вибіркою, значно менше.

Наступним етапом експерименту було дослідження динаміки росту біоіндикатора в ЗНГ при використанні 4% концентрату розчину МН.

Загальна тенденція результатів з підвищеною концентрацією біопрепарату є схожою з попередніми експериментами, але вплив ФЕ зразків ґрунту на рослини на є більш м'яким.

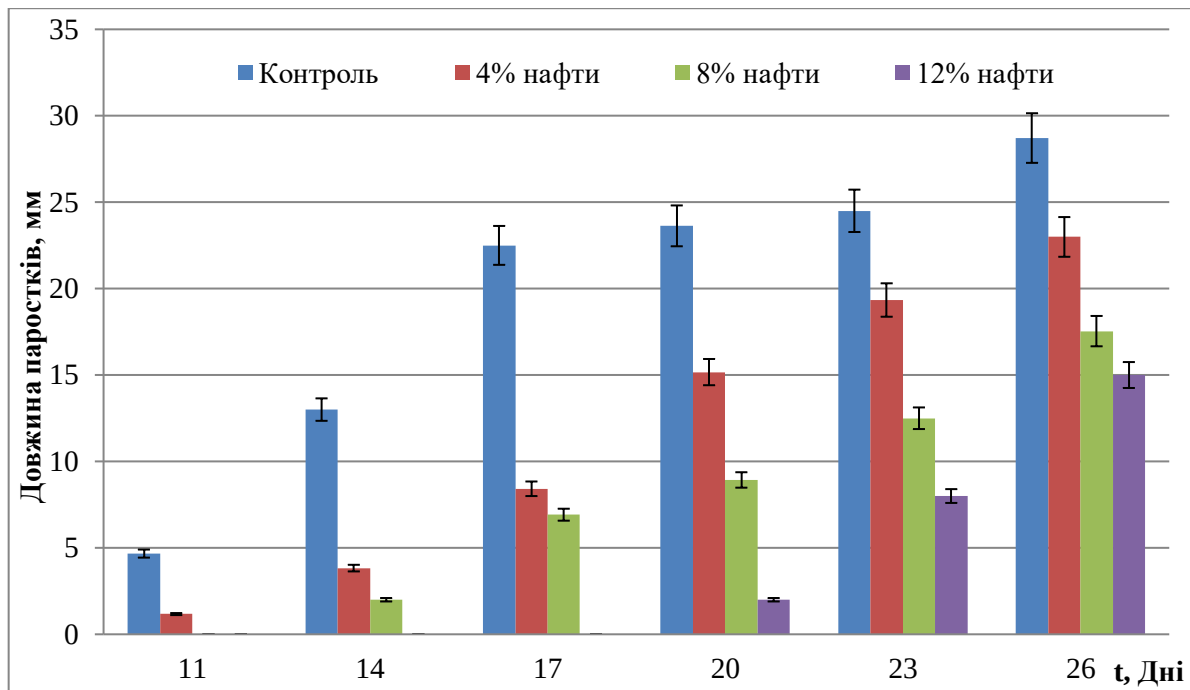


Рис. 3.2 – Динаміка росту біоіндикатора в забрудненому нафтопродуктами ґрунті при використанні 4% концентрату розчину біопрепарату

Відбувається стабільний ріст та розвиток рослин у контрольних зразках, а також зразках з порівняно низьким вмістом нафтопродуктів. Середня висота рослин при 4% вмісту нафти складає приблизно 80% висоти рослин у контрольних зразках, хоча слід відмітити, що ступінь розвитку пагонів та листви є гіршим. Висота рослин при 8% та 12% нафти складає, відповідно, 62% та 50% відносно контролю.

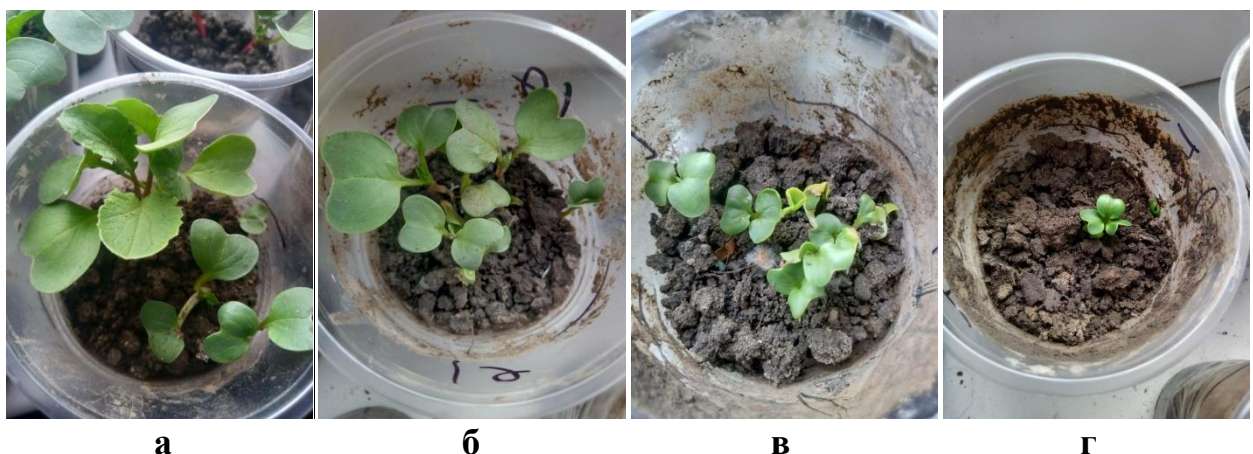


Рис. 3.3 – Результати проростання *Raphanus sativus* var. *sativus* на кінець експерименту у разі застосування 2% біопрепарату (а – контроль; б – 4% нафти; в – 8% нафти; г – 12% нафти)

У результаті спостерігається пригнічення ростових процесів у всіх групах від 4 до 12 % концентрації нафти. Забруднення ґрунту нафтою без використання розчину спричиняло більш негативний вплив на ріст та розвиток рослин індикаторів, ніж забруднення з використанням МН *Bacillus amyloliquefaciens* у тих же дозах нафти.

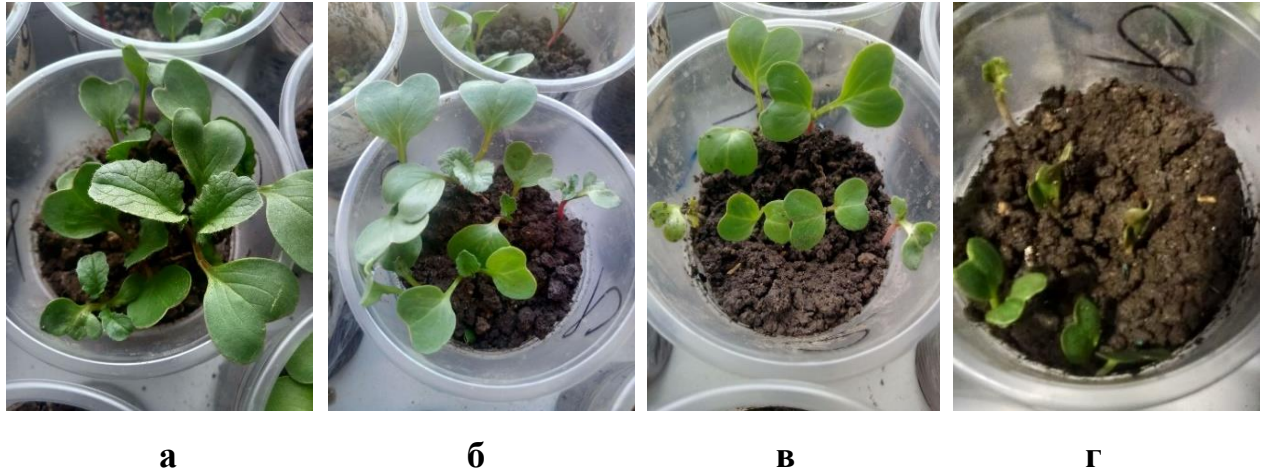


Рис. 3.4 – Результати проростання *Raphanus sativus* var. *sativus* на кінець експерименту у разі застосування 4% біопрепарату (а – контроль; б – 4% нафти; в – 8% нафти; г – 12% нафти)

Присутність статистично достовірної різниці між середніми значеннями біопараметрів у контрольному та досліджуваних варіантах свідчить про значні зміни ростових процесів у біоіндикаторів (у даному випадку редису). При підвищенні об'ємів біопрепарату ріст та розвиток рослин відбувається краще, а остаточні показники значно ближчі до контрольних параметрів. Однак, навіть при концентрації розчину біопрепарату на рівні 4% у зразках з 16% нафти проростання все одно не відбувається (Таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

Середньостатистична висота рослин на кінець експерименту, мм

Концентрація розчину біопрепарату, %	Концентрація нафти, %				
	0	4	8	12	16
0	28,71 ± 3,97	-	-	-	-
2	-	18,06 ± 3,57	14,80 ± 1,93	7,00 ± 0,72	-
4	28,66 ± 4,45	22,99 ± 3,74	17,54 ± 2,28	15	-

Найбільші показники проростання рослин при концентрації розчину біопрепарату, як і передбачалось, міститься у зразках з 4% та 8% концентрації нафти. При подальшому підвищенні вмісту полютанту, відбувається інгібування рослин і повноцінного росту уже не відбувається. Рослини атрофуються, деякі в'януть та засихають. Так, встановлено, що протестований консорціум МН проявляє свою активну дію у зразках із порівняно невисокою концентрацією нафтопродуктів.

Наступною частиною методики біотестування у даному випадку є розрахунок змін урожайності у протестованих зразках. Контрольованим показником є дані вимірювань сухої маси органічної речовини проростків, як найбільш інформативного показника при визначенні ступеня токсичності ґрунту. Площа поверхні землі в кожній склянці складає однакові 0,02123 дм², а вимірювання маси проводили використовуючи надземну части рослин. Загальні результати для різної концентрації біопрепарату у різних зразках відображені на Рисунку 3.5.

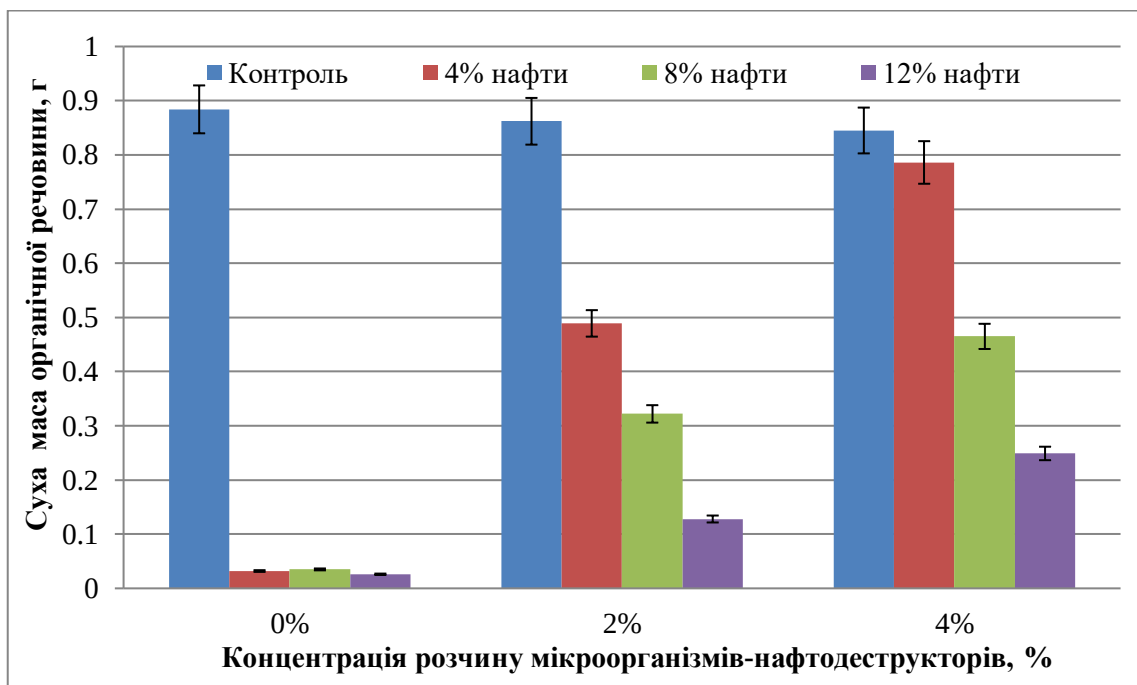


Рис. 3.5 – Вага органічної речовини, г

Враховуючи кількість отриманої органічної речовини, спостерігаємо стабільне збільшення урожайності з підвищенням концентрації розчину від 2% до 4% в усіх протестованих варіантах. Вони свідчать, що навіть при

забрудненні нафтою 4% та 8% та використанні біопрепарату в концентрації 4% зразки ґрунтів були лише помірно токсичні для рослин-індикаторів. При цьому встановлено, що ґрунт у досліджуваному варіанті з використанням розчину нафтодеструкторів у зразках без нафти подібної якості, як і в контрольному досліді та не має токсичних властивостей. Між контрольними групами з використанням та без використання біопрепарату на ґрунті без нафтового забруднення значної різниці у процесах росту не простежується. Схожість паростків при дії концентрату розчину 2% та 4% достовірно не відрізняється від контролю, тобто нафтодеструктори не пригнічують ростові процеси біоіндикаторних рослин в умовах відсутності нафти.

За результатами біотестування ЗНГ та розрахунку загальної фітотоксичності (табл. 3.2), встановлено, що дози внесення нафти 4% та 8% не чинили гострої токсичної дії на рослини за умови використання 4% біопрепарату нафтодеструкторів. Достовірний рівень пригнічення склав 21,86% і 27,91%, відповідно. У цьому випадку, вже з перших днів розвитку рослин можна було зробити висновок про ефективність внесення розчину біопрепарату «Деструктор НШ». В інших зразках, окрім повільного проростання, також спостерігався нерівномірний розвиток паростків та листви рослин, однак все ще помітне значне зниження ФЕ порівняно з контролем без додавання мікроорганізмів *Bacillus*.

Таблиця 3.2

Загальна фітотоксичність зразків при використанні МН, %

Концентрація розчину біопрепарату, %	Концентрація нафти, %			
	4	8	12	16
0	96,04 ± 2,14	96,38 ± 2,89	97,06 ± 2,64	100
2	44,68 ± 4,28	63,57 ± 3,72	85,52 ± 3,01	100
4	21,86 ± 5,79	27,91 ± 5,14	61,40 ± 3,78	100

Якщо зіставити результати обліку біомаси рослин індикаторів, що вирощуються в умовах польового досвіду, отриманих в інших роботах [192,

194] на ЗНГ з даними біотестування, то ніяких принципових протиріч не виявляється. Тобто дослідження продуктивності ґрунту, забрудненого різними дозами нафти, за врожайністю наземної біомаси трав в умовах польового досвіду підтверджує результати лабораторного дослідження з визначення токсичності цих ґрунтів методом біотестування.

3.2 Порівняльний аналіз застосування різних рослинних тест-систем для подальшої ремедіації ґрунту

Для наступного етапу біотестування у підготовлені ґрунти висаджували насіння (не менше 40-50 штук) різних рослинних тест-систем. У якості біоіндикаторів використовували наступні рослини:

Злакові рослини, серед яких Тимофіївка лугова (*Phleum pratense*) та Суданська трава (*Sorghum bicolor subsp. Drummondii*) які є зручними тест-системами для визначення забруднення ґрунтів нафтою та визначення впливу нафтопродуктів на ріст та розвиток низькорослих культур, адже ці рослини є стійкими до забруднення ґрунтів [195].

Бобові рослини, до яких належать Козлятник лікарський (*Galega officinalis*), Конюшина лугова (*Trifolium pratense*) та Люцерна посівна (*Medicago sativa*), як і Злакові входять до тест-систем вивчення нафтового забруднення ґрунтів, адже здатні фіксувати атмосферний азот і самостійно забезпечують себе мінеральним живленням у ЗНГ [193]. Також симбіонти, що розвиваються на кореневій системі цих рослин, здатні розкласти вуглеводні нафти та використовувати їх на свою користь [194].

На відміну від Бобових та Злакових, родина Капустяних, представником яких є Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*), – досить складна система для дослідження. Справа в тому, що Капустяні ростуть дуже швидко та легко накопичують у своїх листках мінеральні речовини, що потрапляють через кореневу систему. Якщо ґрунт та його води забруднені, то в листі накопичуватимуться і важкі метали, і кислоти [196]. Тим не менш, у багатьох

дослідженнях *Sinapis arvensis* зазначена як стійка, але чутлива до нафтового забруднення рослина [194, 196].

Дослідження проводилося протягом 12 повних тижнів. Токсичність ЗНГ оцінювали, виходячи з різниці результатів між контрольними та дослідними зразками. Загальний результат проростання зображений у Таблиці 3.3. Тут слід враховувати, що визначення за даними параметрами має сенс лише у порівнянні кожної окремої рослини зі своїм власним контролем, оскільки висота пагона сама по собі між різними рослинами не є об'єктивним показником. Для порівняння рослин у якості біоіндикаторів (як для висновків, так і для подальших досліджень) використовувались дані загальної фітотоксичності, розраховані за формулами, вказаними у підрозділі 2.4.

Таблиця 3.3

**Середньостатистичні результати проростання насіння
на кінець експерименту, мм**

Рослинна тест- система	Масове співвідношення нафтошламу та незабрудненого ґрунту					
	Контрольний екземпляр		1:1		2:1	
	Висота пагонів	Довжина коренів	Висота пагонів	Довжина коренів	Висота пагонів	Довжина коренів
<i>Sorghum bicolor subsp. Drummondii</i>	120.16 ± 19.07	95,79 ± 10.68	62.54 ± 8.40	71.27 ± 5.35	34.96 ± 5.70	42,59 ± 7.37
<i>Phleum pratense</i>	104.64 ± 13.75	81.87 ± 6.29	72.76 ± 9.62	60.18 ± 7.34	-	-
<i>Galega officinalis</i>	112.35 ± 20.92	94,16 ± 8.13	85.09 ± 15.72	70.97 ± 11.26	14.71 ± 3.19	31.79 ± 5.42
<i>Trifolium pratense</i>	92.08 ± 23.52	85.97 ± 18.60	43.82 ± 10.07	45.95 ± 9.52	-	-
<i>Medicago satíva</i>	79.61 ± 12.24	98.49 ± 14.87	37.71 ± 7.96	59.67 ± 12.75	-	-
<i>Sinapis arvensis</i>	74.36 ± 10.77	68.59 ± 7.04	56.31 ± 8.78	49.32 ± 6.69	20.93 ± 3.37	35.42 ± 6.48

Кожна окрема тест-система виявила різну стійкість до забруднення нафтошлагом, а також на вплив біопрепарату. Поступовий ріст рослин у ході експерименту зображений на графіках (Рис. 3.6, Рис 3.7 та Рис. 3.8). Потрібно

відмітити, що при співвідношенні маси нафтошламу до незабрудненої частини 4:1 у лабораторних умовах, не проросло жодного насіння рослин. Тобто при підвищенні концентрації нафтошламу до 80%, навіть при використанні біопрепарату, насіння ні однієї із відібраних тест-культур не приймається. Те ж саме справедливо і для більшості контролів, які містили нафтошлам, без використання мікроорганізмів *Bacillus*.

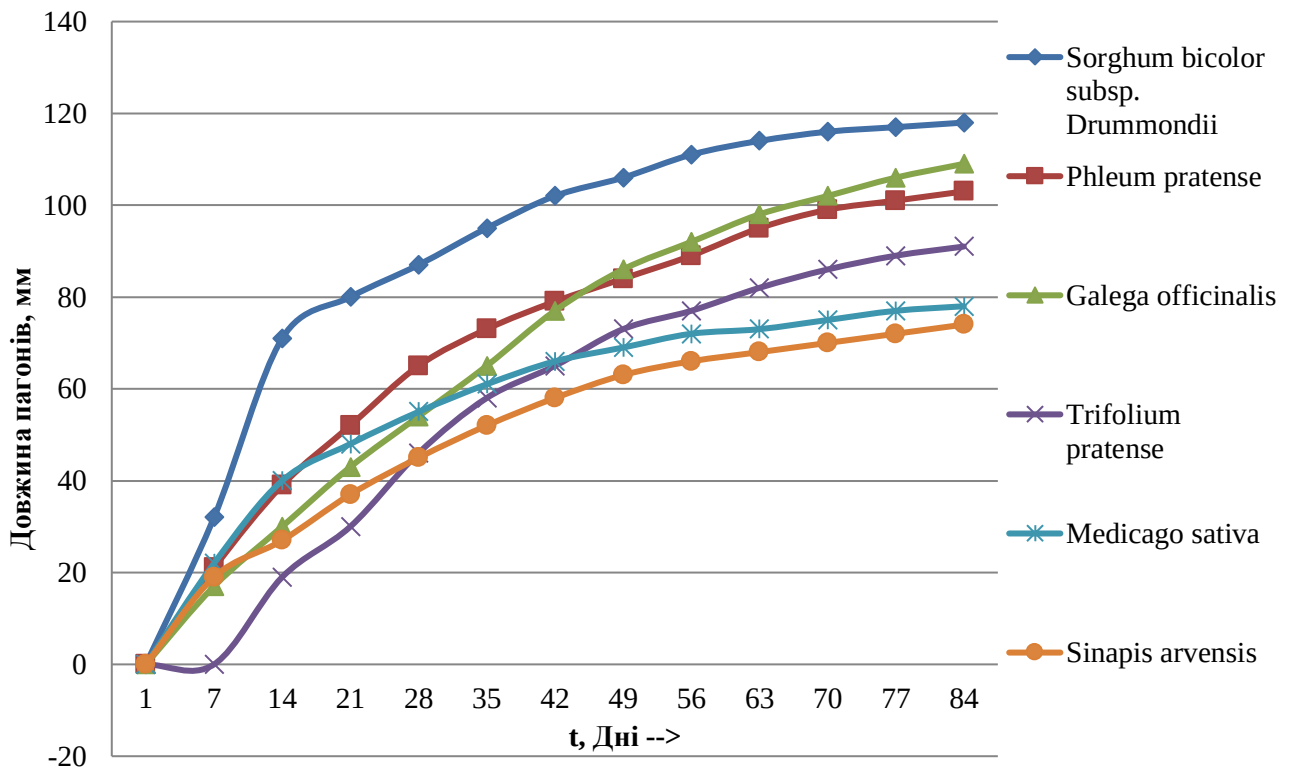


Рис. 3.6 – Динаміка росту рослин біоіндикаторів в умовах відсутності нафтового забруднення (контроль)

При нижчих показниках забруднення найбільш стабільні процеси проростання відбуваються із застосуванням *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* та *Sinapis arvensis* у якості біотестів. Але враховуючи, що це єдині з протестованих культур, які проростали навіть при відсутності біопрепарату, робимо висновок про меншу чутливість вказаних рослин до нафтового забруднення. Ймовірно, ці рослини, потрапляючи у несприятливі умови, збільшують швидкість метаболізму для підвищення стійкості.

У варіанті із застосуванням біопрепарату рослини досягали контрольного рівня на 50-75% при концентрації забруднення у ґрунті на рівні 50% і мали лише 15-20% росту при початковому вмісті нафтошламу в 70%. Коренева система при цьому набагато менше інгібувалася забруднювачем і дія біопрепарату на неї виявлялася не настільки значною.

Реакції тест-систем виявлялися на різних етапах проведення експерименту, в залежності від характеру та інтенсивності забруднення. На Рисунку 3.7 показано, що у рослин, вирощених у ґрунтах, забруднених нафтою, було виявлено певні зміни у лінійних розмірах пагона рослин. Наприклад, якщо у контролі довжина надземної частини *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* у віці 84 доби становила у середньому 120 мм, то у варіанті з 50% забрудненням нафтошлагом довжина рослини була лише 62 мм.

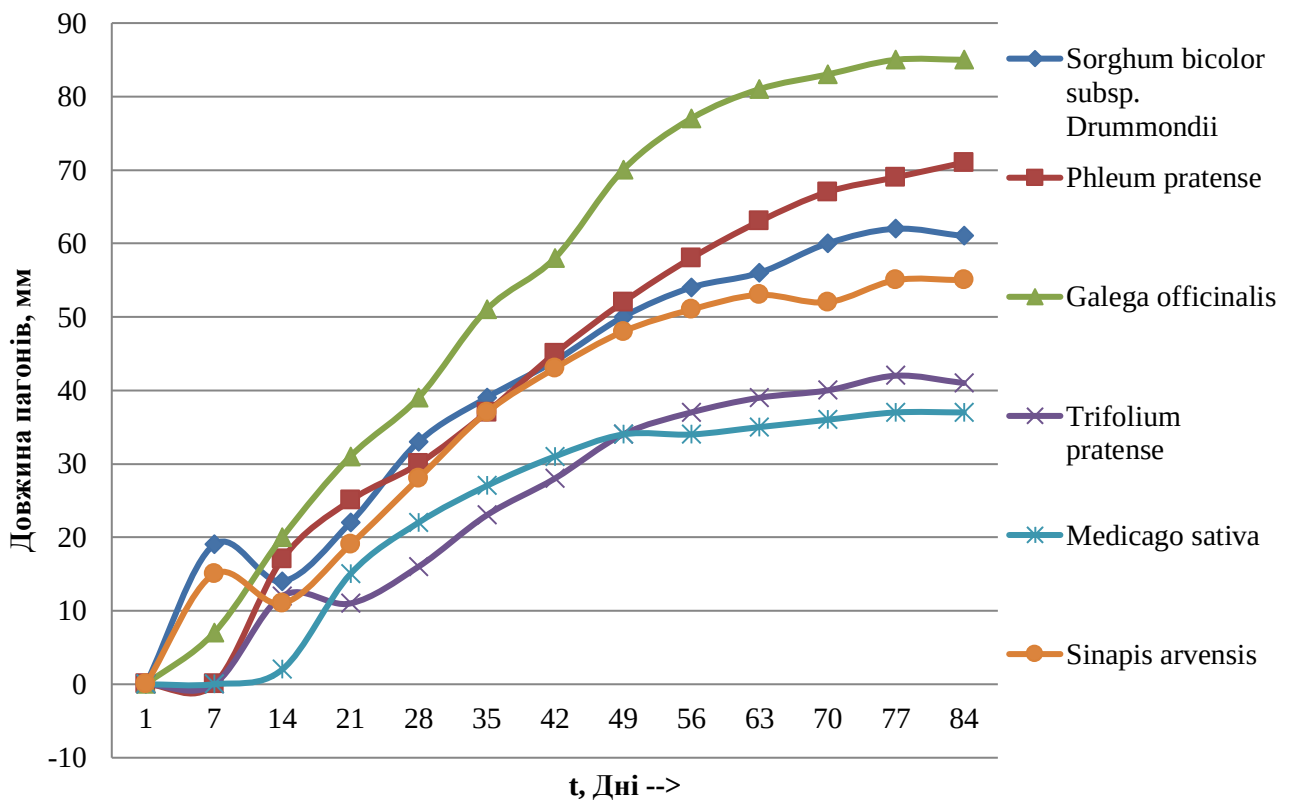


Рис. 3.7 – Динаміка росту рослин біоіндикаторів при масовому співвідношенні нафтошламу та ґрунту 1:1 (50% нафтошламу), мм

З одного боку, досліджені Злакові відрізнялися від інших рослин, виявляючи чітку стимуляцію проростання у ґрунті під дією біопрепарату, але з

іншого боку - зниження біомаси під впливом токсиканту у них було більш значним у порівнянні з Капустяними. Чутливість рослин до токсичності нафтошлему виявлялася різних етапах онтогенезу: в одних - на стадії сходів, в інших - через місяць-півтора культивування.

Треба зазначити, що досить стійким до ФЕ при вмісті 50% нафтошлему у досліджених зразках є *Phleum pretense*, хоча при подальшому підвищенні забруднення – ростових процесів даної біоіндикаторної рослини не відбувається взагалі. Це може свідчити про високу чутливість *Phleum pretense* при наближенні до граничних концентрацій НЗ. З одного боку, подібна чутливість може слугувати ефективним контролем процесів фітостимуляції, тобто розвитку симбіотичних організмів, які приймають участь у процесах очищення ґрунту. Але, з іншого боку, відсутність ростових процесів знижує ефект ризодеградації (мікробіологічної деструкції у кореневій зоні рослин) при високих рівнях забруднення.

Окремо слід виділити, що найтоксичнішими були проби ґрунту при забрудненні нафтошлемом на рівні 80%. У такому випадку росту рослин не відбувається і на графіках вони не зазначені.

В інших, менш забруднених нафтою зразках, протягом усього періоду дослідження у випадках із застосуванням біопрепарату спостерігалася тенденція збільшення біометричних параметрів проростків тест-культур. За даними отриманих зразків можна зробити висновок про значну стимулюючу дію біопрепарату на біологічні показники біоіндикаторів, навіть при високому (до 70%) забрудненні нафтошлемом.

За результатами біотестування зразків ЗНГ, встановлено, що дози внесення нафти у співвідношенні 2:1 спричиняють гостру токсичну дію лише у перші 14 днів експерименту. Отримані результати можна пояснити тим, що у цей період внесення біопрепарату ще не здійснило достатньої дії на дослідні проби ґрунту (відбувається нарощування маси МН). Тому перші паростки піддаються дії значного ФЕ, внаслідок чого відбуваються процеси зів'язання.

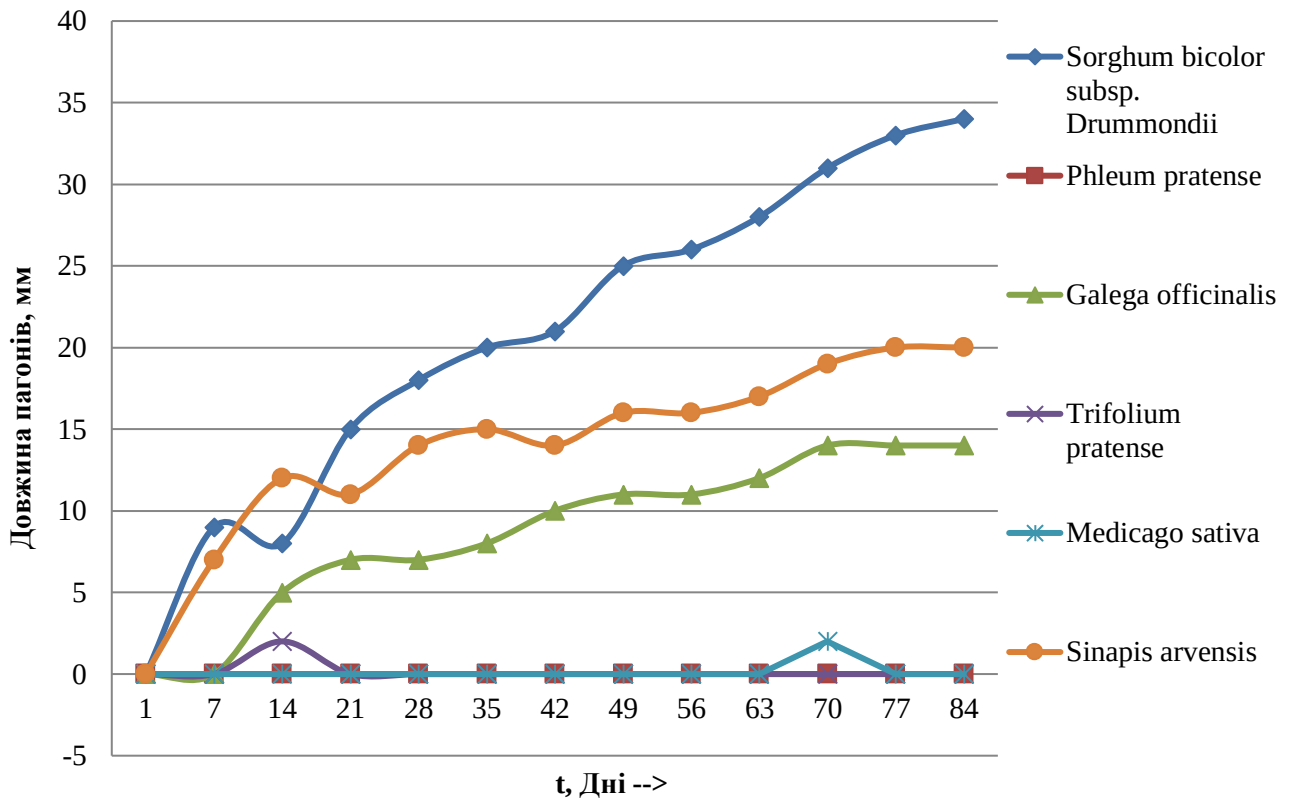


Рис. 3.8 – Динаміка росту рослин біоіндикаторів при масовому співвідношенні нафтошляму та ґрунту 2:1 (70% нафтошляму), мм

Масова загибель молодих рослин через деякий час після їх проростання у ЗНГ, показана в нашому експерименті, також спостерігалася багатьма авторами [194-196, 200]. Цей ефект не пов'язаний з погіршенням фізичних властивостей ЗНГ, оскільки він відзначається і при внесенні у ґрунт з нафтою композитних сумішей, що відновлюють промивний та повітряний режим ґрунту [201]. Іншим поясненням може бути повільне проникнення в рослини вуглеводнів нафти, які зрештою викликають їхнє пригнічення та загибель [202]. Період первинної токсичної дії при нафтовому забрудненні не такий тривалий, тому що він обумовлений легкими фракціями вуглеводнів, які відносно швидко руйнуються використаними МН [201].

У даному випадку в період проростання та початку росту рослин відбувається значна кількість загибелі паростків. Наприклад, для *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* кількість зів'ялих рослин у середньому складає 10-14 штук, при тому, що проросли у кожному окремому випадку не більше 30.

Отримані результати є достовірними оскільки ефект повторювався в десятках обраних проб в ідентичних умовах, с десятками рослин в кожній окремій пробі ($p=0.05$). Подібні результати проростання спостерігаються для усіх тест-культур, окрім *Galega officinalis*. У даному випадку загибелі молодих рослин не відбувається і паростки які прийнялися – продовжують рости, не виявляючи процесів зів'янення. Хоча при цьому, як видно з графіків, вегетаційний період *Galega officinalis* все одно піддається значному ФЕ і процеси росту та розвитку інгібуються поллютантами присутніми у зразках.

Для кожної окремої рослинної тест-системи при кожному рівні концентрації нафтошламу проводився контроль на зразках, що не піддавалися впливу біопрепарату нафтодеструктору. Без використання КМН в більшості випадків насіння не проростає. Однак, в окремих зразках, а саме *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* та *Sinapis arvensis* насіння приймається, в таких випадках відбуваються стабільні процеси зів'янення, рослини вище 4-5 мм не проростають. В усіх контролях без використання КМН рослини повністю зів'яли, ще до завершення терміну експерименту.

Для визначення загальної фітотоксичності, окрім росту рослин, також важливо визначити і отриману біомасу. Загальна урожайність рослин у зразках ЗНГ зображена на Рисунку 3.9. Аналіз показників проростання насіння, кількості паростків, лінійних розмірів стебел і коренів, ваги отриманої органічної речовини, тобто загальної продуктивності росту рослин у лабораторних умовах дозволив встановити взаємозв'язок різних рівнів НЗ та впливом на таке забруднення експериментального біопрепарату.

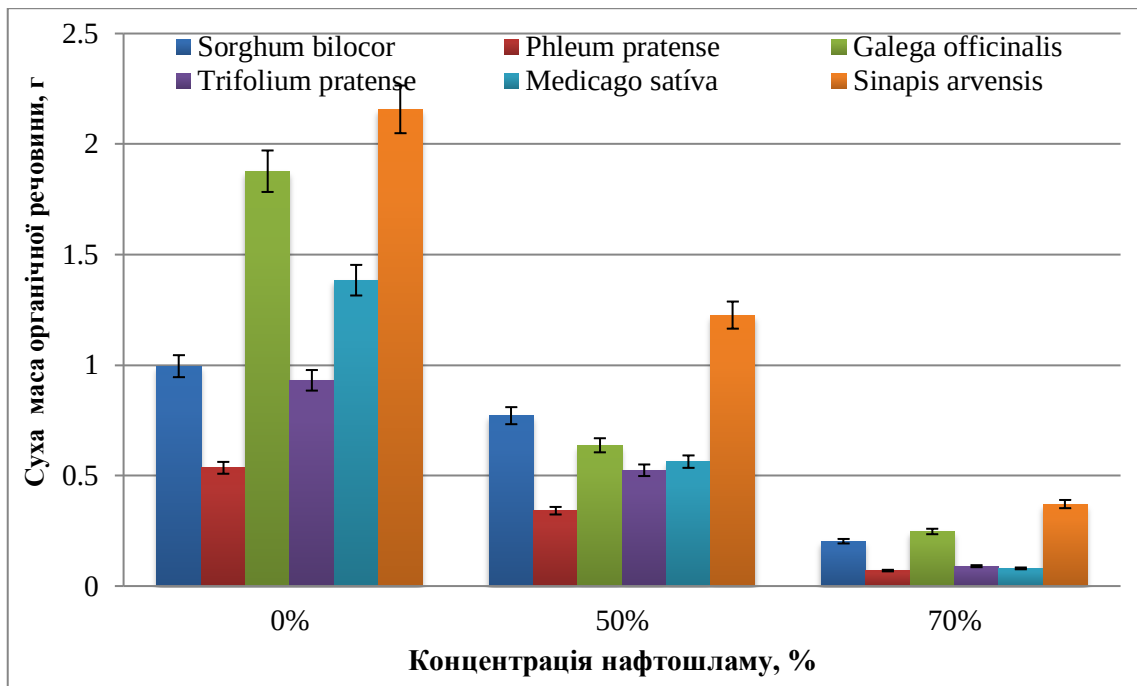


Рис. 3.9 – Вага органічної речовини, г

Кількість проростків *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* та *Sinapis arvensis* більше ніж в інших випадках, відповідно і суха маса в цих випадках більша та становить 67,04% і 52,18% відносно маси контролю. У випадку з *Galega officinalis* маса становить 36,70%, що відповідає середній довжині рослини та її росту щодо контролю. У зразках з *Galega officinalis* хоч і спостерігається найменша кількість проростків, відносно загальної кількості висадженого насіння, але рослини, які проросли, є міцнішими та стійкішими за інші протестовані види.

Одним із важливих показників ступеня відновлення рекультивованих ґрунтів є їх токсичність по відношенню до рослин. Відомо, що у ЗНГ токсичність викликана не тільки прямою дією вуглеводнів, а й розвитком фітотоксичних видів мікроміцетів [194]. Біопрепарати на основі бактерій *Bacillus* могли сприяти зниженню щільності популяцій мікроскопічних грибів в ЗНГ, тобто зменшенню частки фітотоксичних видів, що було однією з передумов до усунення токсичності ґрунту за відношенням до тест-рослин при 50% забрудненні та значному зниженні при 70% (Табл. 3.4).

При аналізі ФЕ на початку експерименту, під час спостереження за проростанням, використані для фітореMediaції рослини роду Злакових (*Sorghum*

bicolor subsp. *Drummondii*, *Phleum pratense*) виявляли найбільший ступінь чутливості до присутності нафтошламу в ґрунті, тоді як Капустяні (*Sinapis arvensis*) - найменшу, що може бути пов'язано з більшою масою їх насіння. Бобові (*Galega officinalis*, *Medicago sativa*, *Trifolium pratense*) займали проміжне становище. *Sorghum bicolor* subsp. *Drummondii* та *Phleum pratense* демонстрували менше інгібування коренів та пагонів паростків під дією нафтошламу, проте воно супроводжувалося їх дистрофією (потоншенням та зменшенням розгалуженості).

Таблиця 3.4

Загальна фітотоксичність зразків при використанні МН, %

Рослинна тест-система	Співвідношення кількості нафтошламу до масової частки незабрудненого ґрунту		
	1:1	2:1	4:1
<i>Sorghum bicolor</i> subsp. <i>Drummondii</i>	26.45 ± 5,36	71.91 ± 3,95	100
<i>Phleum pratense</i>	14.92 ± 5,90	100	100
<i>Galega officinalis</i>	19.86 ± 5,83	81.05 ± 3,44	100
<i>Trifolium pratense</i>	46.73 ± 4,89	100	100
<i>Medicago sativa</i>	48.16 ± 5,17	100	100
<i>Sinapis arvensis</i>	24.32 ± 5,41	70.27 ± 3,86	100

Паралельне тестування з використанням біопрепарату показує значне зменшення негативного ефекту від забруднення ґрунту нафтою та нафтопродуктами. Контрольованим показником є дані вимірювань показників проростання насіння, кількості паростків, лінійних розмірів стебел і коренів, ваги отриманої органічної речовини тест-культур під час вегетаційного періоду. Вони свідчать, що навіть при ступені забруднення нафтошламом 50% та при використанні біопрепарату в концентрації 4% зразки ґрунтів були лише помірно токсичні для рослин-індикаторів. Однак, подальше зниження стартової

концентрації нафтошламу є недоцільним, оскільки значно підвищується використання незабруднених ґрунтів.

Висновки до розділу

Отже, у результаті аналізу даних отриманих у ході проведеного дослідження з використанням зразків ЗНГ з концентрацією нафти від 4% до 16% та використанням у якості біотесту рослини *Raphanus sativus* var. *sativus*, доведено позитивний вплив біопрепарату на ЗНГ.

При дослідженні ФЕ *Raphanus sativus* var. *sativus* та впливу нафтодеструкторів різної концентрації на ЗНГ, було з'ясовано, що суттєве зменшення проростання паростків спостерігається в усіх вибірках без використання концентрату розчину. Максимальний ФЕ становить 96,04%, 96,38%, 97,06% у групах з концентрацією 4%, 8%, та 12% нафти відповідно. Окремо слід зазначити, що при концентрації нафти 16% проростання паростків не відбулося взагалі. Найменший ФЕ спостерігався у зразках з 4% та 8% концентрації нафти при використанні 4% розчину біопрепарату – 21.86%, 27.9%, відповідно, та при впливі 12% політанта результат складає 61.40%.

За даними кінцевих результатів вегетаційних дослідів максимальна фітотоксичність ЗНГ відзначалась для Бобових. Злакові також підтвердили високий ступінь чутливості до забруднювача.

Статистична обробка даних показала наявність достовірної різниці між висотою рослин *Sorghum bicolor* subsp. *Drummondii* та *Sinapis arvensis* відносно контролю, у варіантах досліді з внесенням і без внесення біопрепарату, що свідчить про чутливість рослин до обробки ЗНГ. *Sinapis arvensis* планується використовувати у подальших дослідженнях.

Отримані результати свідчать про високий вплив нафти та нафтопродуктів на ґрунти та їхні властивості для пророщування рослин. Чим вища концентрація нафти на певну площу ґрунту, тим більша концентрація нафтодеструктивних біопрепаратів необхідна для їх нейтралізації.

РОЗДІЛ 4

ЗНИЖЕННЯ РІВНЯ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТУ НАФТОПРОДУКТАМИ ЗА РАХУНОК КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ, ФУЛЬВОКИСЛОТ ТА МЕЛІОРАНТІВ

4.1 Результати проростання за використання фульвокислот у комбінації з біопрепаратом

Для подальшого підвищення ефективності біоремедіації було досліджено можливість застосування добавок, що збагачують ґрунт біогенними елементами і сприяють приживлюваності, росту та активності рослинно-мікробних асоціацій. У якості основного компоненту фіторемеднаційної системи була взята Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*), що є рослиною космополітом, досить легкою у вирощуванні для різноманітних досліджень [196]. Основною причиною використання *Sinapis arvensis* стала стабільність цієї рослини у попередніх експериментах. Додатковими компонентами є органічне добриво (фульвокислота) і застосований «Деструктор НШ», використані окремо в різних поєднаннях.

Зведені результати загального росту рослини у ґрунтосуміші з різним співвідношенням нафтошляму (50%, 70% та 80%) та добрив (0%, 0,2% та 1%) відображені у Таблиці 4.1. У всіх випадках використовувався біопрепарат на основі штаму *Bacillus* у концентрації 4%. Використання випробуваного методу позитивно впливало на процеси оздоровлення ґрунту.

Проростання перших паростків зафіксовано у контрольних групах як на 3-4 так і на 9-10 дні експерименту. У склянках з високою концентрацією нафти проростання відбулося пізніше, на 6-7 та 14-15 дні відповідно. Потрібно відмітити, що інтенсивність проростання значно змінювалася у дні поливу біопрепаратом, такі результати підтверджують його ростостимулюючі властивості.

Таблиця 4.1

Результати проростання *Sinapis arvensis* у штучно забрудненому ґрунті, мм

Концентрація фульвокислот	Концентрація нафтошламу					
	50%		70%		80%	
	Висота пагонів	Довжина коренів	Висота пагонів	Довжина коренів	Висота пагонів	Довжина коренів
1%	71.09 ± 7.63	64,70 ± 5.58	54.19 ± 5.73	48.83 ± 3.95	9.16 ± 1.27	15,42 ± 4.31
0,2%	65.59 ± 6.08	58,70 ± 4.26	31.64 ± 2.90	39.17 ± 3.52	4.02 ± 0.81	11,63 ± 2.94
0%	56.31 ± 8.78	49.32 ± 6.69	20.93 ± 3.37	35.42 ± 6.48	-	-

Встановлено, що за 2 тижні після початку експерименту, тобто чотирьохразового додаткового поливу розчином із нафтодеструкторами відбувалося покращення росту та розвитку біоіндикаторних рослин. Подібний ефект може бути пов'язаний як із нарощенням критичної маси МН у ґрунті, достатньої для помітного зниження ФЕ, так і з кумулятивно-деструктивним ефектом нафтопродуктів, насамперед легких вуглеводнів. У такому випадку відбувається зменшення рівня токсичності ґрунту, нижче гранично допустимої концентрації для рослин, що призводить до покращення морфометричних параметрів.

Забруднення ґрунту вуглеводнями призводить до порушення балансу основних поживних елементів - вуглецю, азоту, фосфору та ін., що тягне за собою суттєві перебудови фізіологічної структури ґрунтового мікробіоценозу. Однак, ці перебудови неоднозначні і залежать від присутності та активності мікроорганізмів, активність яких здатна по-різному змінювати баланс поживних елементів у ґрунті, що у свою чергу призводить до зміни отриманої органічної речовини. Але важливим є те, що ризосферний ефект, який характеризує вплив рослин на ґрунтові мікроорганізми, у присутності вуглеводнів підвищується. Зміни кількості отриманої біомаси у залежності від концентрації нафтошламу та фульвокислот зображені на графіку (Рис. 4.1).

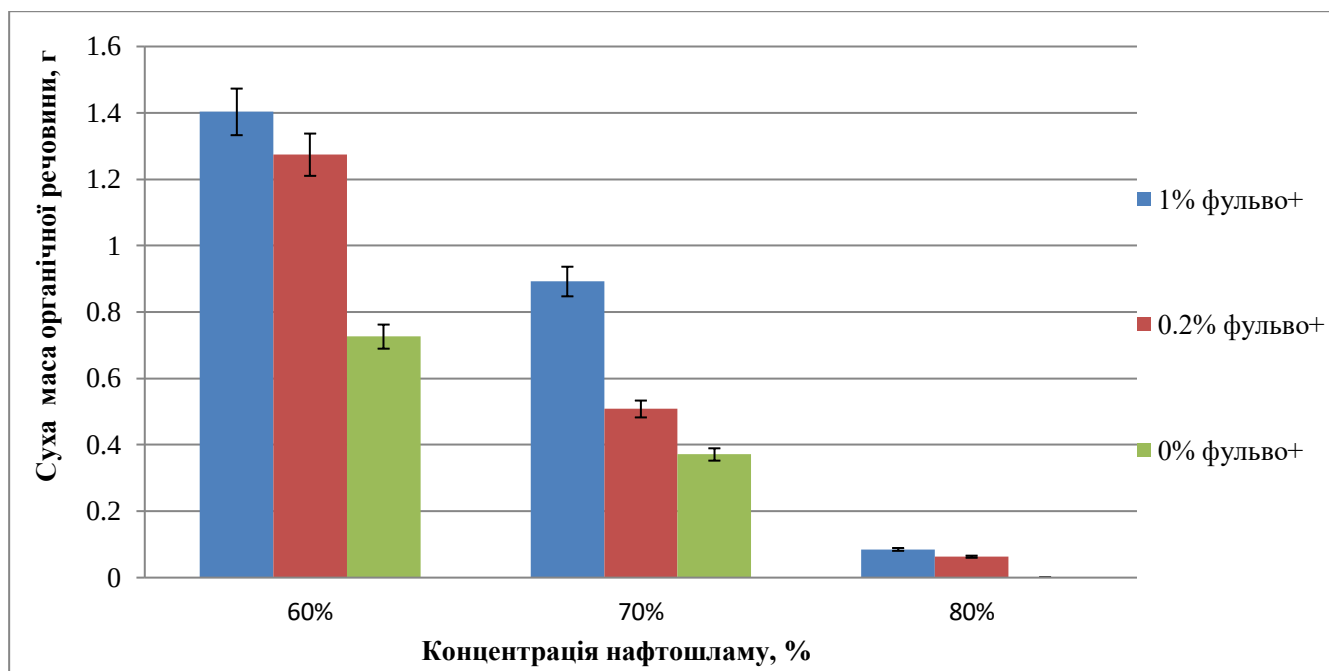


Рис. 4.1 – Вага отриманої органічної речовини, г

Зміна морфометричних параметрів рослин під впливом вуглеводнів пов'язана зі зміною їх біохімічних характеристик, що відображають токсичну дію полютанта і адаптивні реакції рослини на стрес в умовах забруднення. Аналіз ФЕ показав, що через 3 місяці з використанням нафтодеструкторів токсичність у комбінації з фульвокислотами знизилася на 42,67-73,86%, а у варіанті без них – на 29,73-57,15%.

Однак слід зазначити, що у багатьох випадках використання біодоповнення [202-204], ступінь біодеградації вуглеводнів нафти визначається лише потенціалом МН, внесених у систему. Тобто потенціал нативної мікробіоти, присутній у забрудненій екосистемі нафтових або нафтових продуктів, у біодеградації вуглеводнів залишається невикористаним, що знижує ефективність процесу біологічної рекультивації. Використання добрив у представленій системі вирішує подібну проблему, таким чином покращуючи результативність оздоровлення ґрунту та створюючи у ґрунті сприятливі умови для процесів, пов'язаних із його рекультивацією.

Результативність біодеструкції та, як наслідок, пов'язане з нею зниження ФЕ наведено у Таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Загальна фітотоксичність ЗНГ при використанні нафтодеструкторів, %

Концентрація фульвокислот	Концентрація нафтошламу		
	50%	70%	80%
1%	26,14 ± 3,76	36,81 ± 4,31	97,95 ± 1,17
0,2%	29,35 ± 4,27	57,33 ± 1,58	98,48 ± 1,39
0%	42,58 ± 2,10	70,27 ± 3,86	100

При забрудненні нафтошламом ґрунту на 50% продуктивність *Sinapis arvensis* знизилася на 20-30%. Під дією препарату продуктивність підвищилася, але не досягала контрольного рівня.

Токсична дія вуглеводнів на розвиток рослин у ЗНГ супроводжувалася пожовтінням та засиханням, що могло бути пов'язане з транспірацією через рослину токсичних сполук. Але подібний ефект відмічається лише у перших тижнях проведення експерименту і залежить від періоду первинної токсичної дії при НЗ.

Як показано на графіку (Рис. 4.2), ефект зниження ФЕ був найбільш вираженим при культивуванні біоіндикатору з періодичною обробкою біопрепаратом у комбінації з органічними добривами. Особливо виразно він проявлявся на зміні лінійних розмірів кореневої системи і тим самим на її морфології у бік формування більш тонких і розгалужених коренів.

Надалі, пряма дія біопрепарату (нафтодеструкція) та вплив кореневої системи рослин (ризодеградація) призводять до зниження фітотоксичності ґрунту. Це важливо, насамперед, через підвищення щільності ризосферних мікробних популяцій, що в свою чергу призводить до сприятливіших і стабільніших умов ризосфери у порівнянні з ґрунтом без рослин. Таким чином, рослини в умовах забруднення є чинниками, що підтримують та/або збільшують чисельність ґрунтових мікробних популяцій, надаючи їм нішу та додаткове харчування для розмноження та виконання захисних функцій від впливу поллютанта, інтенсифікуючи тим самим процеси оздоровлення ґрунту.

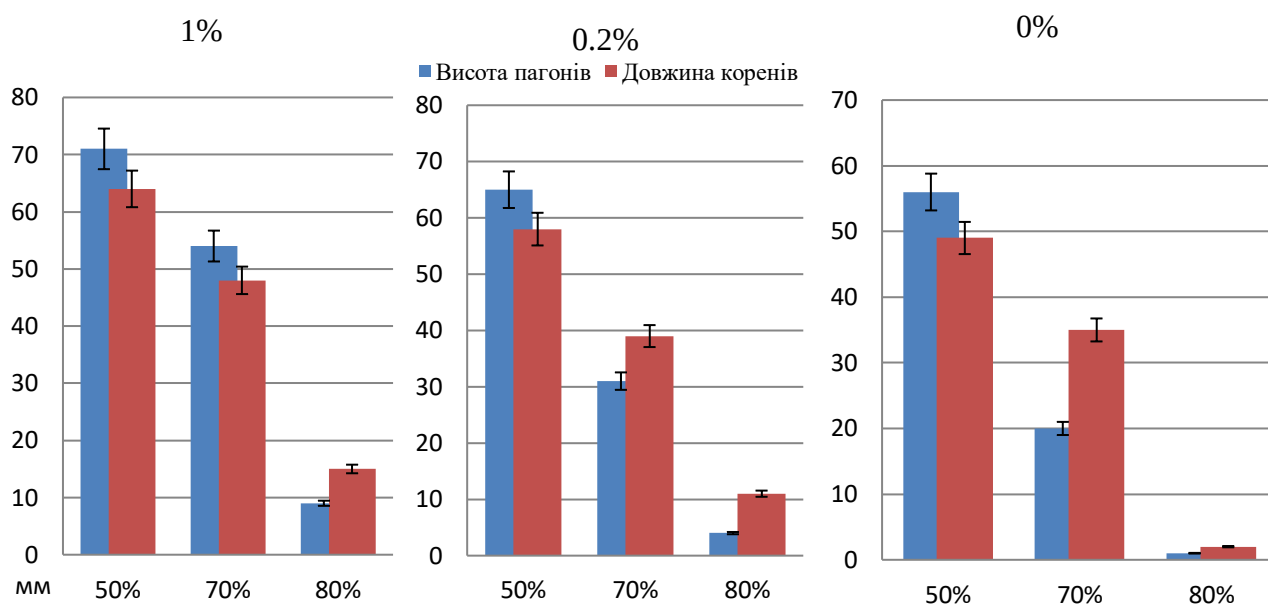


Рис. 4.2 – Результати проростання *Sinapis arvensis* у ЗНГ (50%, 70%, 80% нафтошляму) та застосуванні біопрепарату (4%) та біодобрив (0,2% та 1%), мм

Окрім довжини коренів та висоти пагонів, важливим параметром, який дає оцінку фітотоксичності НПС, є урожайність (Таблиця 4.3). Фізіологічна структура мікробних співтовариств в ризосфері характеризується більшою стійкістю і менше схильна до змін під впливом забруднювача, ніж у ґрунті без впливу органічних добрив та, як наслідок, розгалуженої кореневої системи. У цьому випадку *Sinapis arvensis*, як і в попередніх експериментах, показала себе більш стійкою, ніж це можна помітити за проростанням насіння або масою рослини.

Таблиця 4.3

Вага органічної речовини, г

Концентрація фульвокислот	Концентрація нафтошляму		
	50%	70%	80%
1%	2.118 ± 0.211	0.892 ± 0.088	0.085 ± 0.006
0,2%	1.927 ± 0.190	0.508 ± 0.069	0.063 ± 0.005
0%	1.255 ± 0.094	0.371 ± 0.032	-

Результати випробувань запропонованого біологічного нафтодеструктору показали, що введення КМН *Bacillus* з додаванням фульвокислот значно підвищує ефективність процесу біодеградації нафтопродуктів.

Але, виходячи з результатів вимірювань токсичності ґрунту, стає помітно, що при 50% концентрації нафтошламу ефект від 0,2% та 1% фульвокислот не має достовірної різниці. Це означає, що при подібному рівні забруднення достатньо невисокої концентрації добрив для запуску симбіотичного процесу нафтодеструкції у кореневій зоні рослин. Але уже при 70% нафтошламу у ґрунтосуміші указаної кількості фульвокислот є недостатньо, тобто приближення до граничних концентрації полютанта потребує більш значного впливу органічних добрив для запуску тих самих процесів.

Також, при підвищенні концентрації забруднення і надалі використання добрив, біопрепарату та їх комбінації не дають достатнього ефекту для виживання рослин. Тому при забрудненні нафтошламом на рівні 80% та вище добрива призводять лише до того, що насіння проростає, іноді навіть раніше, ніж при менших рівнях забруднення, але паростки швидко в'януть та засихають, оскільки висока концентрація нафтопродуктів має критичний кумулятивний ефект на подальший вегетаційний період рослини. Враховуючи подібний результат, використання добрив при надвисокій концентрації нафтошламу є недоцільним, оскільки це не призводить до активації ефекту ризодеградації та, як наслідок, не покращує ефективність нафтодеструкції.

4.2 Вплив внесення соломи у якості меліоранту на процес біодеградації нафтопродуктів

Дослідження впливу соломи як меліоранту на процес біодеградації нафтопродуктів проводилось впродовж такого ж періоду за тих самих умов НПС, як і в попередніх експериментах. Для цього за тест-системи було обрано такі рослини: Суданська трава (*Sorghum bicolor subsp. Drummondii*), Тимофіївка лучна (*Phleum pratense*) та Козлятник (*Galéga officinális*). Такий вибір рослин

зумовлений їхньою стійкістю до забруднювачів, великою швидкістю росту та невибагливістю до вирощування [193, 195].

У ЗНГ додавали соломі та нафтошлам у різних концентраціях (50%, 70% та 80%), відповідно, та все ретельно перемішували. До ґрунтосуміші висаджували насіння рослин тест-систем та поливали біопрепаратом усі зразки, окрім контрольного. Динаміка росту (Рис. 4.3) була різною при різних умовах забруднення ґрунтів та при різних концентраціях меліоранту. Перші результати з'явилися вже на 4-5 день у контрольних зразках, інші екземпляри проростали пізніше.

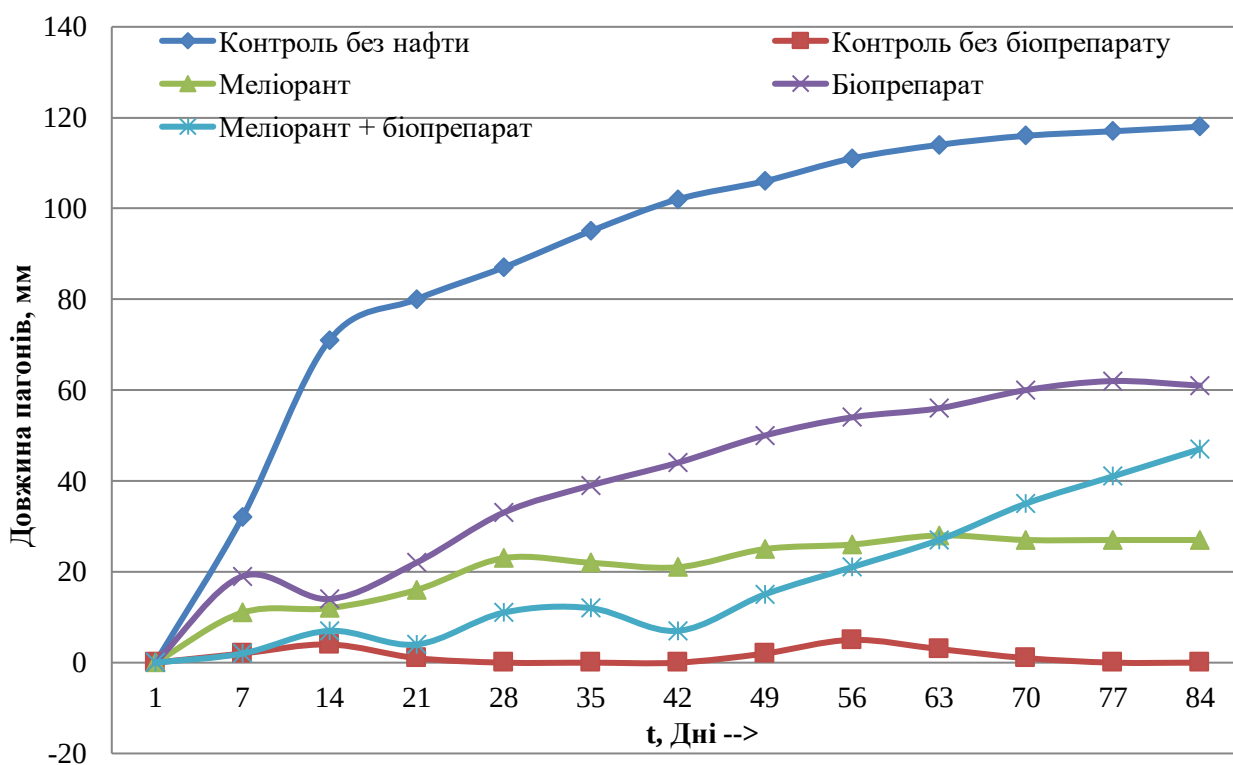


Рис. 4.3 – Проростання рослин в умовах нафтового забруднення (50% нафтошламу) при використанні нафтодеструкторів та меліоранту

При аналізі результатів, зображених на графіку, показується активне проростання насіння у контрольному екземплярі без використання біопрепарату. Потрібно відмітити, що подібні результати відсутні у попередніх дослідженнях. Це свідчить про користь додавання соломи в ґрунт, що створює кращі умови для кругообігу речовин у ґрунтосуміші. Однак, як і у попередніх

експериментах на початку процесу спостерігається масова загибель молодих рослин. Подібний ефект підтверджує попередні висновки про те, що ФЕ пов'язаний не стільки з фізичними властивостями ґрунту, скільки з проникненням НВ до рослин під час вегетаційного періоду. Цей ефект також спостерігається у варіантах з соломою, у якості фітомеліоранту, але за відсутності МН. Оскільки первинна фітотоксична дія обумовлена в основному легкими фракціями нафти - їх ефект швидко ослаблюється, але без біодоповнення бактеріями *Bacillus* фітотоксичність помітно не знижується. Внаслідок цього рослини піддаються стагнації та засихають.

Остаточні результати проростання *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* на кінець експерименту з рівнем забруднення нафтошламом у 50%, використанням 4% біопрепарату та додаванням соломи зображено на Рисунку 4.4.

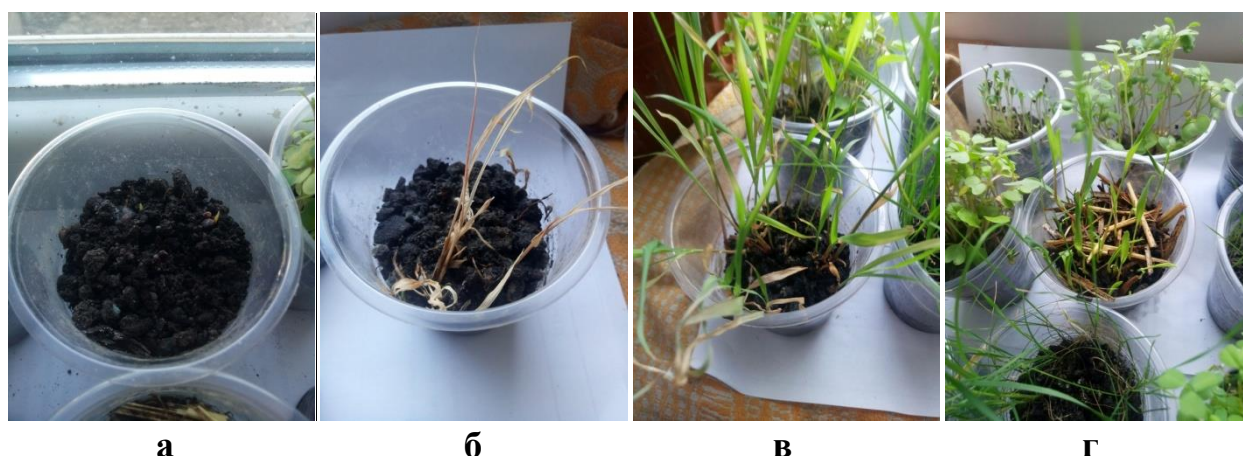


Рис. 4.4 – Результати проростання *Sorghum bicolor subsp. Drummondii* на 86 день дослідження (а – контроль; б – додавання меліоранту; в – внесення біопрепарату; г – комплексне застосування біопрепарату та меліоранту)

У даному варіанті досліджень, порівняння проводилось відносно варіантів без додавання соломи, оскільки стандартні визначення різниці з проростанням у незабрудненому контролі вже встановлена у попередніх експериментах. Тобто у даному випадку концентрувалися на визначенні впливу соломи як меліоранту на фітотоксичність ЗНГ відносно токсичності зразків, описаних у підрозділі 3.2., і саме вони тут слугували контролем. Загальний результат

проростання усіх використаних біоіндикаторних рослин зображений у Таблиці 4.4.

Високий вміст концентрації нафтошламу навіть при використанні меліоранту призводить до унеможливлення пророщування насіння. Так, при 70% та 80% вмісту нафтошламу росту насіння не відбулось. Можна зробити висновок, що хоч солома і виступає якісним меліорантом, проте, зі збільшенням концентрації нафтошламу її стимулюючі властивості не виявляються.

Зміни кількості біомаси в залежності від концентрації нафтошламу та при сталій концентрації біопрепарату – 4% показують варіації токсичності заражених ґрунтів. Найбільші показники проростання рослин були отримані в екземплярі з використанням 50% концентрації нафтошламу.

Таблиця 4.4.

**Середньостатистичні результати проростання насіння
на кінець експерименту при концентрації нафтошламу 50%, мм**

Рослинна тест-система	Варіанти вибірок					
	Біопрепарат		Солома		Солома + біопрепарат	
	Висота пагонів	Висота пагонів	Висота пагонів	Довжина коренів	Висота пагонів	Довжина коренів
<i>Sorghum bicolor subsp. Drummondii</i>	62.54 ± 8.40	71.27 ± 5.35	27.43 ± 4.83	39.23 ± 6.90	59.61 ± 8.33	76.07 ± 6.08
<i>Phleum pratense</i>	72.76 ± 9.62	60.18 ± 7.34	12.57 ± 2.10	20.88 ± 3.07	31.59 ± 3.27	40.98 ± 4.66
<i>Galega officinalis</i>	85.09 ± 15.72	70.97 ± 11.26	-	-	37.52 ± 4.11	36.81 ± 2.94

У контрольному екземплярі, де соломі було використано у якості меліоранту, середні показники довжини проростання значно відрізняються від попередніх досліджень без використання біодоповнення, у такому випадку лише *Galega officinalis* не дає ростків, що пояснюється чутливістю цього представника сімейства Бобових до забруднення. Це повністю відповідає результатам наших попередніх досліджень.

Також слід зазначити, що при застосуванні соломи та біопрепарату разом - результативність біотестування не показує покращення, більш того у зразках без соломи ріст рослин є кращим.

Надалі, як і у попередніх експериментах, було визначено урожайність рослин які проросли у зразках ЗНГ. Результати зображені на Рисунку 4.5.

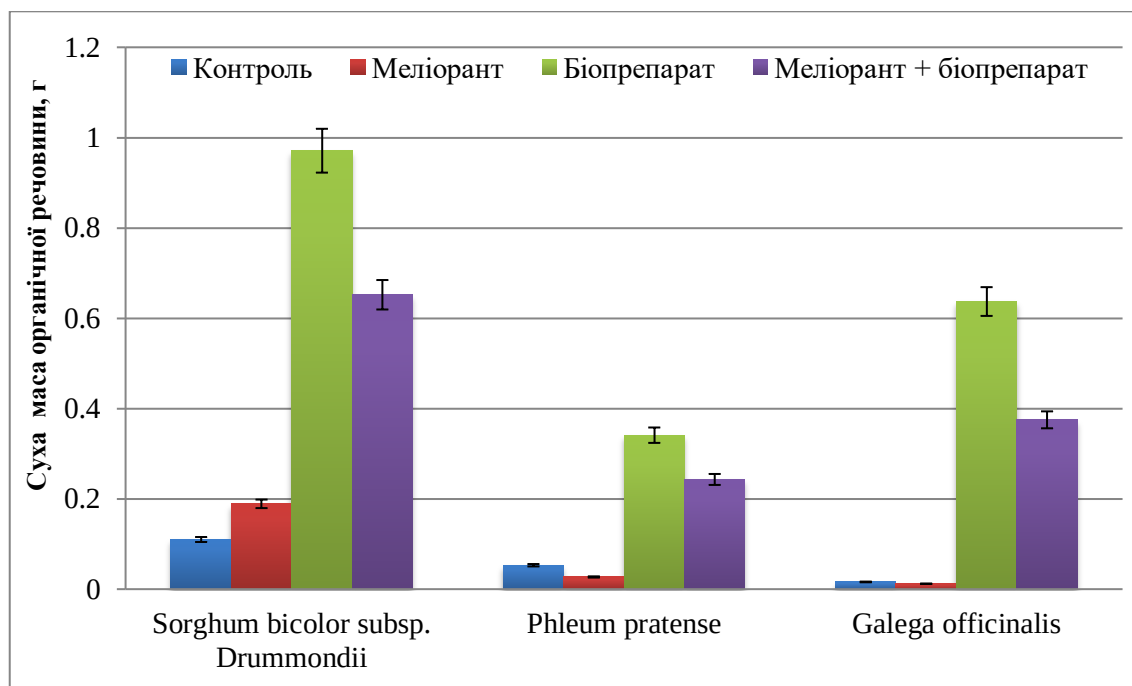


Рис. 4.5 – Вага органічної речовини, г

Використання фітомеліорантів справляло позитивний вплив на мікробіоту ЗНГ, проте ступінь виразності впливу був неоднаковим у різних випадках. Сам біопрепарат активніше, ніж солома стимулював зниження ФЕ, у тому числі і за рахунок активних мікроорганізмів, здатних розкласти вуглеводні. Важливим моментом є також те, що хоч солома і може виступати у якості більш економної альтернативи біопрепарату, вона, тим не менш, не показує симбіотичного ефекту у разі комбінативного використання, як у випадку з фульвокислотами. Це підтверджується і результатами розрахунку загальної фітотоксичності, наведеними у Таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Загальна фітотоксичність зразків при використанні МН, %

Рослинна тест-система	Варіанти вибірок		
	Біопрепарат	Меліорант	Меліорант + біопрепарат
<i>Sorghum bicolor</i> subsp. <i>Drummondii</i>	26,45 ± 5,02	73,85 ± 2,52	50,61 ± 4,03
<i>Phleum pratense</i>	14,92 ± 4,83	93,26 ± 1,77	39,37 ± 4,85
<i>Galega officinális</i>	19,86 ± 4,19	98,49 ± 1,24	47,18 ± 4,16

4.3 Хроматографічний аналіз зразків

У подальшому був проведений порівняльний хроматографічний аналіз ступеня деградації нафтопродуктів у ґрунті з мікробіологічним консорціумом у поєднанні з різними рослинними тест-культурами. Аналіз зразків фракційного складу ЗНГ дозволив виявити якісні та кількісні зміни рівня забруднення та ряд загальних закономірностей впливу на вуглеводневий склад зразків. Результати газохроматографічного аналізу високої роздільної здатності зразків ЗНГ показують різний ступінь деградації нафти.

Узагальнені дані окремих експериментів, проведених у різний час при різних умовах із різними видами рослин, наведені у Таблиці 4.6.

Таблиця 4.6

Загальна маса нафтопродуктів у зразках на кінець експерименту, мг

Тип зразків	Концентрація нафтошляму	
	50%	70%
Стартові зразки	51168	58024
Без використання біопрепарату	49920	55976
З використанням біопрепарату	37440	47904
З використанням біопрепарату та фульвокислот	37200	37992

Виходячи із результатів аналізу фракційного складу, зниження концентрації забруднення за допомогою самоочищення (без використання

біопрепарату) відбувається досить повільно, з 51168 мг/кг до 49920 мг/кг за 86 діб проведення експерименту. Порівняно з цим використання деструкторів показує загальний результат зниження до 37440 мг/кг. Подібний результат досягається завдяки повноцінному розкладанню легких C_{10} - C_{14} фракцій нафти у забруднених зразках (Рис. 4.6). Окремий науковий інтерес становила рівномірність деструкції легких та важких фракцій нафтошламу в досліджених зразках. Слід зазначити, що деструкція більш важких фракцій нафтошламу (C_{15} - C_{19} , C_{20} - C_{24}) відбувається значно повільніше. Так, фракція C_{20+} залишається майже незмінною у своєму кількісному складі.

Представлені форми хроматограм дещо відрізняються від стандартних гаусових піків. Характерна форма цієї області нагадує «горб», що включає насичені циклічні вуглеводні, нафтоароматичні та полярні сполуки. Оскільки нафта розкладається, утворюється кілька сполук, які створюють горб, який не повністю розділяється у процесі газової хроматографії. Подібні форми фракційних сполук НВ є добре помітними у зразках із тривалим періодом біодеградації.

Хроматограма стартових зразків (Рис. 4.6а) показує високі концентрації вуглеводнів C_{10} - C_{14} до початку процесу біодеградації. Після 86 днів, коли ЗНГ залишився під дією природного ослаблення (тобто розкладання вуглеводнів нафти місцевими мікроорганізмами та іншими фізико-хімічними процесами), інтенсивність таких піків значно зменшилася (Рис. 4.6б). Однак у такому випадку зменшення піків більш важких фракцій (C_{15} - C_{19} , C_{20} - C_{24}) майже не відбувається. Використання біопрепарату зменшує інтенсивність таких піків на хроматографах, що якісно відображає дієвість мікроорганізмів роду *Bacillus*.

У наступних зразках (Рис. 4.7) спостерігаємо зниження кількості нафтопродуктів за загальною масою з 58024 мг/кг до 52976 мг/кг. Так, зниження концентрації відбувається в основному за рахунок біодеструкторів, оскільки зведена статистика по зразках без проростання рослин. Проростання при значному забрудненні (70% нафтошламу) майже не відбувається, що видно з рисунків у розділі 3 (Рис. 3.6 - 3.7).

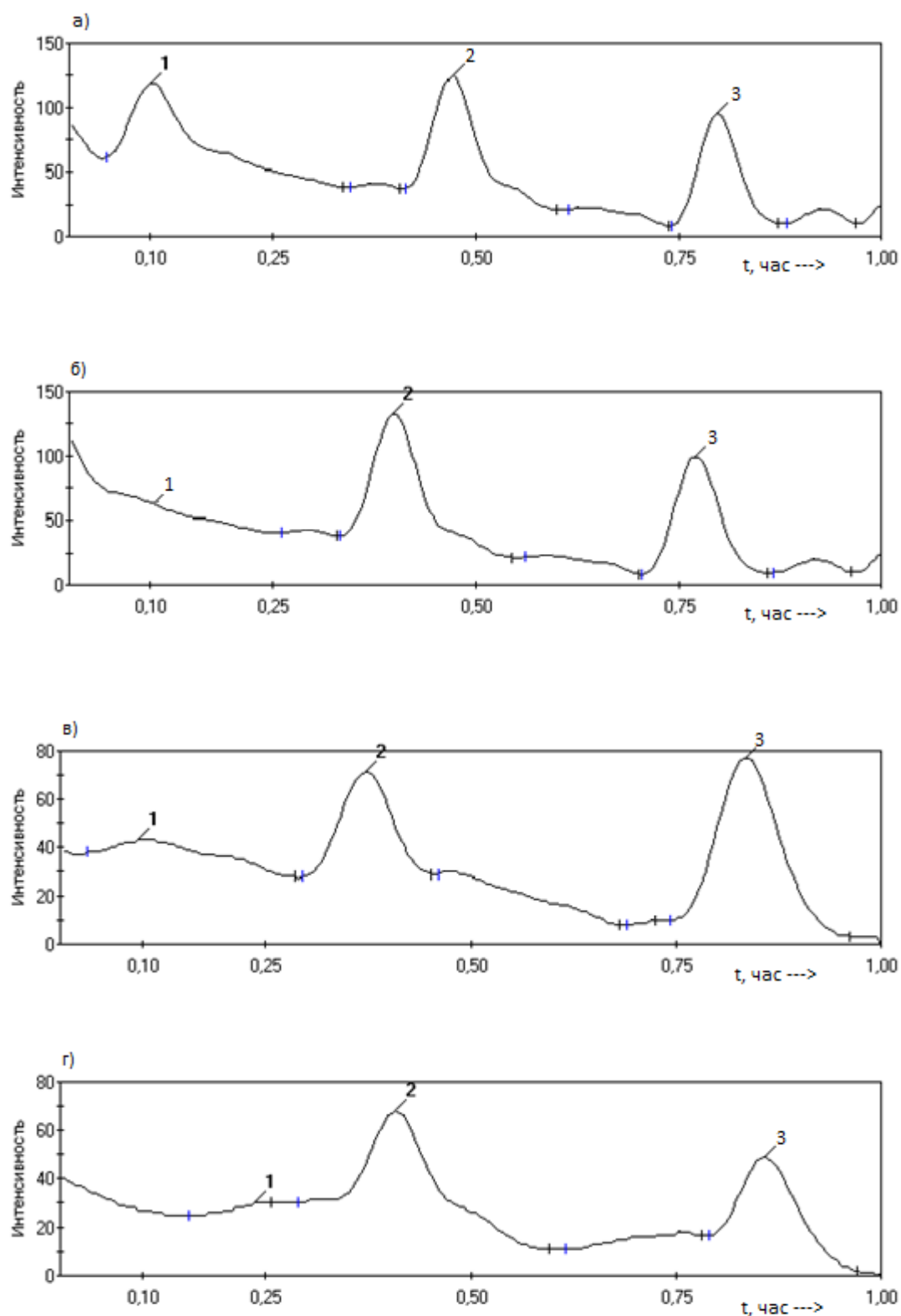


Рис. 4.6 – Хроматографічний аналіз зразків за концентрації нафтошламу 50%.

а) стан ґрунту перед початком експерименту б) контроль без використання біопрепарату в) з використанням біопрепарату г) з комплексним використанням біопрепарату та біодобри

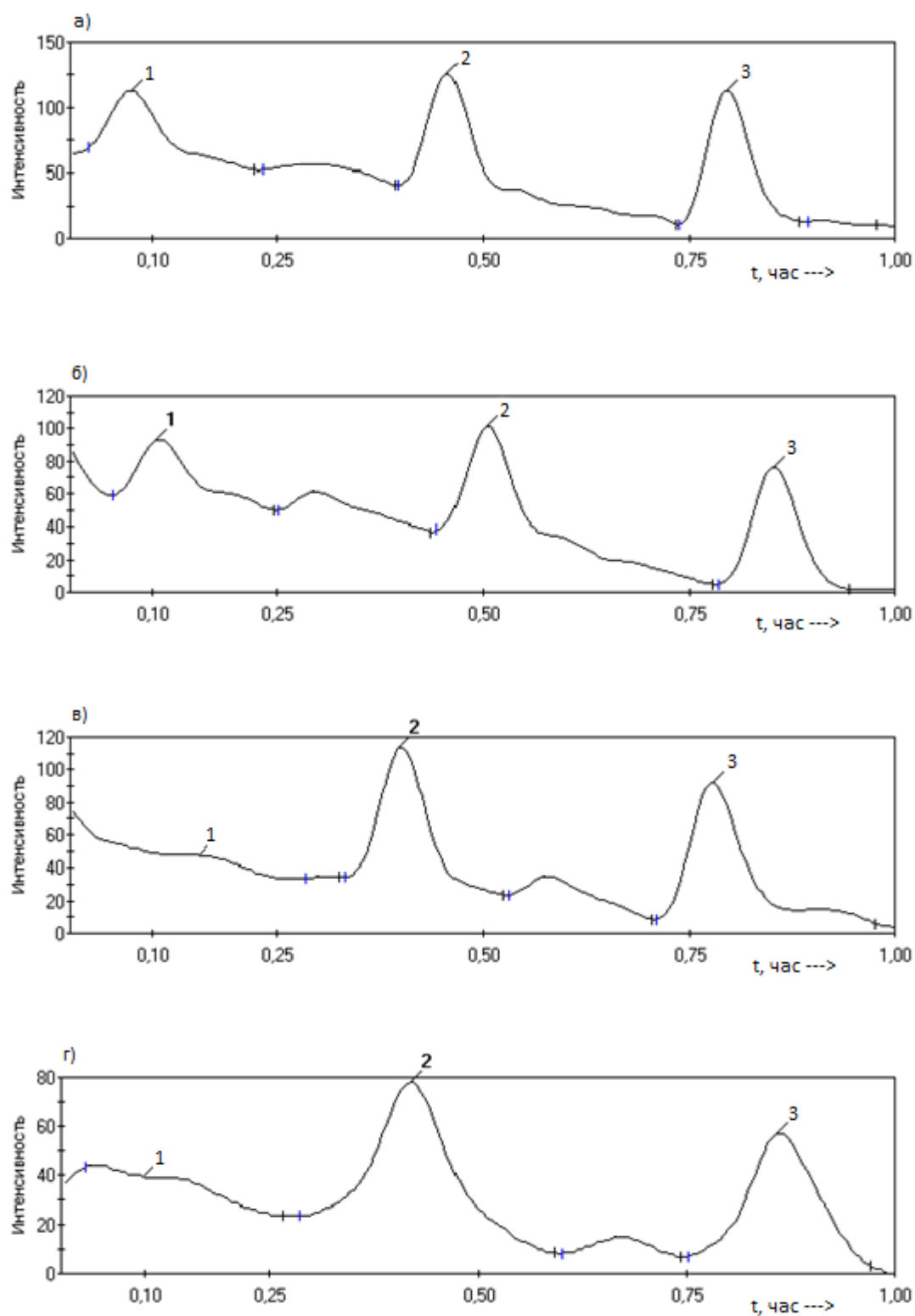


Рис. 4.7 – Хроматографічний аналіз зразків за концентрації нафтошламу 70%.

а) стан ґрунту перед початком експерименту б) контроль без використання біопрепарату в) з використанням біопрепарату г) з комплексним використанням біопрепарату та біодобрих

Використання фульвокислот у даному випадку значно не змінює ріст та розвиток рослин у загальному вегетаційному періоді, а отже ефект посилення ризодеградації є мінімальним (37440 мг/кг та 37200 мг/кг). Тобто використання добрив при 50% концентрації нафтошламу не є доцільним.

Будь-які рослини, які проросли, піддаються значному ФЕ та швидко засихають. Виходячи із результатів хроматографії ґрунту, можна зробити висновок, що відсутність розгалуженої кореневої системи знижує загальну ефективність біодеструкторів. Тому для стимулювання росту використовувалися органічні добрива на основі фульвокислот.

Так, детальне дослідження деструктивної активності за відношенням до вуглеводнів нафти у *Bacillus* показало, що в порівнянні з абіотичним контролем у присутності добрив штами здатні руйнувати на 8-10% більше вуглеводнів від їхньої початкової концентрації, але це є справедливим лише при значному (~70%) рівні забруднення нафтошлагом.

У такому випадку, у зразках з 70% політанта, концентрація забруднювача зменшувалася з 58024 мг/кг до 37992 мг/кг. У порівнянні з попереднім рівнем концентрації ефект є більш значним (13728 мг/кг та 20102 мг/кг, відповідно) при схожій загальній тенденції змін. Кінцевий результат у 37200 мг/кг та 37992 мг/кг при значній різниці у стартовій концентрації можна пояснити тим, що, по-перше, в основному проходить деструкція легких нафтопродуктів, що і виходить із результатів хроматограф. Відбувається майже повне розкладання групи C₁₀-C₁₄, незважаючи на їхній різний стартовий об'єм. По-друге збільшення концентрації нафтопродуктів хоч і підвищує ФЕ ґрунту, також підвищує їх доступність для МН. В свою чергу, це призводить до підвищення ефективності розкладання вуглеводнів. Але оскільки важкі вуглеводневі групи C₂₀₊ є досить стійкими для впливу деструкторів, то після певного порогу концентрація знижується значно повільніше.

Згідно зі статистичними даними, за 86 діб рекультивації 34,52% нафтошламу було еліміновано з ґрунту з рослинами і 27,31% - із незасіяного ґрунту. Таку ефективність ремедіації можна оцінити як задовільну, враховуючи

високу вихідну концентрацію (50-70%) і склад забруднювача, представленого легкими та важкими нафтовими вуглеводнями, швидкість їхньої деградації у дослідних зразках була досить високою (0,233 г/добу). При цьому деградації піддавалися всі основні легкі фракції нафтошлему.

Розрахована швидкість біодеградації нафти штамом *Bacillus* у 0,233 г/добу дещо поступається аналогічним показникам, описаним для типових родів МН *Rhodococcus*, *Mycobacterium* і *Pseudomonas* у лабораторних умовах [31-33]. Однак, слід зазначити, що зразки з сирою нафтою та нафтошлемом, використані в цьому дослідженні, містили високі рівні вуглеводнів порівняно з іншими опублікованими даними. Наприклад, у найменшому за рівнем забруднення зразку початкова концентрація нафтошлему становила 5%, тоді як у дослідженнях, описаних іншими авторами, концентрації зазвичай становили 0,3–1% [206, 207].

Зазначена різниця між середніми значеннями біопараметра у контрольному та досліджуваних варіантах свідчить про значні зміни ростових процесів біоіндикаторів. Досліджений біопрепарат здатен створити прийнятні умови проростання рослин у ЗНГ при її концентраціях від 4% до 12%. Істотне зменшення концентрації нафти виявляється через поліфункціональність протестованих нафтодеструкторів [208]. Виражені емульгуючі, антифунгальні та ростостимулюючі властивості наряду зі здатністю до окислення вуглеводнів знижують ФЕ ґрунту до прийнятного для росту рослин рівня. Емульгування (солюбілізація) вуглеводнів за допомогою секретованих МН речовин покращує надходження забруднювачів з ґрунту в мікробні клітини і сприяє їх деградації. Антифунгальний та ростостимулюючий ефект полягає в антагоністичній дії за відношенням до патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів, профілактиці та лікуванні мікотоксикозів і захисті рослин від фітопатогенних грибів [209].

Ферменти мікроорганізмів, які здійснюють деградацію вуглеводнів, відносяться до класу змішаних функцій оксидоредуктаз (оксигеназ) і пов'язані з мембранними структурами клітин самих бактерій. Оксигенази каталізують включення одного атома кисню з його молекулярної форми в кінцеву метильну

групу вуглеводню з подальшою деградацією його фітотоксичних властивостей включно [210].

Застосовані мікроорганізми секретують у НПС різні біологічно активні речовини, в тому числі цитокиніни: таким чином, біомаса цих мікроорганізмів може грати роль ефективного біологічного добрива, що стимулює розвиток всієї мікробіоти в нафтозабрудненому об'єкті [209].

Висновки до розділу

Випробувані в цій роботі прийоми інтенсифікації очищення ЗНГ із використанням рослинно-мікробних асоціацій продемонстрували основні переваги цієї технології: прискорення деградації персистентних вуглеводнів, стабільність очищення, завдяки тривалій підтримці високої чисельності деструкторів та екологічність.

Як показали дослідження, ЗНГ при 80% виявився зовсім непридатним для рослин. Високий рівень забруднення нафтопродуктами здійснює значну фітотоксичну дію, тому насіння в таких умовах не проростає. Тривале внесення мікробіологічного консорціуму знизило фітотоксичний ефект ґрунтосуміші і зростання рослин спостерігали в деяких варіантах ближче до кінця другого місяця експерименту. Однак, з'ясовано, що використання 80% вмісту нафтошламу робить ґрунтосуміш непридатною для застосування у технологічній схемі.

Аналіз залишкового вмісту нафтошламу у ґрунті показав, що через 3 місяці культивування без будь-яких додаткових обробок концентрація нафтошламу у варіанті без рослин знизилася на 10,54%. Для ґрунту без рослин фактором, що інтенсифікує очищення, служило внесення біопрепарату, що збільшувало ремедіацію ґрунту до 27,31%. Використання добавок на основі фульвокислот навіть у незначних концентраціях (0,2%), як правило, стимулювало очищення ґрунту. Отримані результати показують, що використані прийоми дозволили підвищити ефективність біоремедіації ЗНГ до 34,52%.

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ УТИЛІЗАЦІЇ НАФТОШЛАМІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МЕТОДИКИ БІОРЕМЕДІАЦІЇ

5.1 Підхід до розробки біотехнологічної методики поводження з нафтовмісними відходами

Наступним етапом роботи є розробка основних технологічних етапів біореєдїації ЗНГ, на основі узагальнення та аналізу результатів власних експериментів та значної кількості літературних даних. Основним завданням даного розділу є продемонструвати ефективність рекультивації ґрунту за допомогою наведеної технології та оцінити її потенціал як засобу біореєдїації ґрунту для утилізації нафтошламів. Незважаючи на те, що результати попереднього дослідження є досить багатообіцяючими, технологічна схема повинна розглядатися відносно реальної можливості її забезпечення, економічності та потенційного використання у промислових масштабах.

Видобуток та транспортування вуглеводневої сировини є одними з головних факторів забруднення НПС нафтошламами, пластовими водами, буровими розчинами та іншими промисловими відходами. Екологічна ситуація у нафтогазовидобувних районах вимагає постійного регулювання техногенного впливу на НПС, що враховує не тільки економічні потреби, а й стан природних ресурсів. Вирішення проблем збереження НПС від антропогенного навантаження потребує постійного розвитку практик ефективного господарського механізму раціонального природокористування [211]. Основу таких систем має, безумовно, складати регіональне природоохоронне законодавство. Осмислення того, що відбувається, і необхідність вироблення нових орієнтирів, заснованих на концепції екологічно сталого розвитку, диктує необхідність поступового впровадження у життя повномасштабної екологізації промислового виробництва, що базується на раціональному використанні природних ресурсів і запобігає забрудненню навколишнього НПС [88].

Основним засобом для здійснення процесу знешкодження є бактеріальний препарат «Деструктор НШ», отриманий на основі природного штаму бактерій *Bacillus*. Процес заснований як на дії самих внесених із препаратом МН, так і на стимуляції активності місцевих мікроорганізмів за рахунок додаткової підгодівлі у вигляді добрив та подальшого висівання рослин. Рекультивацію ділянок можливо проводити як біологічним методом з використанням біопрепарату розробленим ТОВ НВП "КАРАТ-БІО", так і комплексним методом з використанням виділених з аборигенної мікрофлори культури МН та рослин меліорантів.

Слід зазначити, що незважаючи на перспективність застосування таких препаратів, недрокористувачі часто ставляться до подібних технологій скептично через їх відносно високу вартість та вузький діапазон застосування. Справді, рекультивація ґрунтів із застосуванням мікробних препаратів-нафтодеструкторів є дуже складним та неоднозначним за результативністю процесом, ефективність якого залежить від великої кількості факторів (клімат, склад ґрунту, аерація тощо). Об'єктивні складнощі, що супроводжують застосування мікробних препаратів-біодеструкторів обумовлені, в першу чергу, умовами зростання та життєдіяльності мікроорганізмів, що входять до їх складу.

Ефективність запланованих робіт із біопрепаратами залежить від наступних факторів: кількість нафтошламу, площа доступної для оброблення ділянки поряд з місцем виникнення шламів або вартість транспортування, тип нафти з якою були утворені нафтошлами, методи видобутку та первинної підготовки нафти, які впливають на параметри нафтопродуктів, довготривалість зберігання нафтошламу, тривалість вегетаційного періоду підібраних рослин (з цілодобово позитивними значеннями температури повітря і поверхні ґрунту). Тип, вміст вологи, кислотність та інші фізико-хімічні параметри повторно використаного ґрунту або нафтошламу, особливості місцевого мікробіоценозу та рослинності та можливість примусової аерації ділянок.

Потрібно враховувати, що виробництво універсального біопрепарату (КМН, спеціально створених для виконання завдань біоремеціації) наразі вважається неможливим з декількох причин: по-перше, нафта з різних районів відрізняються за фракційним і композиційним складом; по-друге, практика біоремедіації має справу не лише з НЗ, а також із забрудненням нафтопродуктами, хімічні властивості яких дуже відрізняються від вихідної нафти; по-третє, райони видобутку, переробки та зберігання нафти і нафтопродуктів суттєво відрізняються один від одного за природно-кліматичними та гідротермічними умовами [119].

Точний молекулярний склад сильно варіює від родовища до родовища, але частка більшості хімічних елементів коливається у досить вузьких межах. Тому, зазвичай у літературі згадується, що найкращим варіантом є використання конкретного КМН для нафтошламу з конкретного родовища [121]. Саме в такому випадку може спостерігатися висока ефективність нафтодеструкції унаслідок високої активності МН та їхньої високої приживаності. Також наводяться приклади про те, що аборигенна ґрунтова мікробіота може бути досить агресивною до внесених МН і, як наслідок, їх приживаність залежить від концентрації нафтопродуктів з того родовища, з якого вони були виділені. Але у цьому є й недолік, тому що буде знижуватися ефективність ризодеградації через підвищення токсичності ґрунту внаслідок високого вмісту поліюганта [212]. Тому визначення найефективнішого співвідношення концентрації нафтошламу для МН та росту рослин є основою для забезпечення найінтенсивніших процесів мікробіологічної деструкції НЗ.

Для використання методики рекультивації «ex situ», тобто розміщення на спеціалізованому технологічному майданчику для проведення біоремедіації, нафтошлам потрібно буде перемістити з місця його початкового накопичення. Пропозиція технологічної схеми повинна надавати оцінку ефективності технології при застосуванні за конкретних параметрів нафтошламу та умов ділянки під процес біоремедіації, тобто забезпечувати розуміння при близькому наближенні до повномасштабних операцій оброблення.

5.2 Основні компоненти технологічної схеми біоре mediaції

5.2.1 Облаштування ділянки

На початковому етапі планується підготовка ділянки площею приблизно 250-300 м², що знаходиться в безпосередній близькості від місця видобутку або місці накопичення нафтових відходів. На цій вирівняній ділянці повинні бути споруджені бар'єри для визначення границь системи та запобігання горизонтальних розливів нафтошляму.

Ґрунт, отриманий у процесі підготовки (наприклад вирівнювання) ділянки, може бути використаний для будівництва бар'єрів (Рис. 5.1, 2). У такому випадку бар'єри споруджуються на висоті один метр над поверхнею землі та мають бути нахилені, щоб утворити суцільну межу та підтримувати модельну систему дренажу до кута ділянки, який діятиме як внутрішня зона відстійника. Також стінки бар'єру потрібно покрити спеціальним матеріалом (наприклад геотекстилем, або ззовні на базову конструкцію помістити непроникну армовану поліетиленову підкладку, товщиною приблизно 20 мм та закріпити поверх бар'єру за допомогою будівельного матеріалу), щоб запобігти деформації під час експлуатації ділянки. Зовнішні розміри ділянки повинні складати приблизно 15 метрів у ширину та 20 метрів у довжину, утворюючи робочу зону площею 175 квадратних метрів усередині ділянки для проведення утилізації. Така системи може містити приблизно 300 кубічних метрів ґрунтосуміші з нафтошлямом.

У основі побудованої ділянки встановлюються 20-ти метрові труби (діаметром 300 мм) для безперервної перфорованої аерації. Аераційні процеси є одним з основних обмежувачів кількості нафтошляму, який би піддавався біодеградації одночасно, оскільки при збільшені масиву необхідно буде встановлювати декілька шарів аераційної системи для адекватної аерації менш пористого ґрунтового середовища. Аераційна труба повинна бути перфорована

через кожні 10 см і вся покрита геотекстильним полотном або шаром дрібного гравію, щоб запобігти засміченню труби ґрунтом (Рис. 5.2, 5). Аераційна труба з'єднується з неперфорованою колекторною трубою.

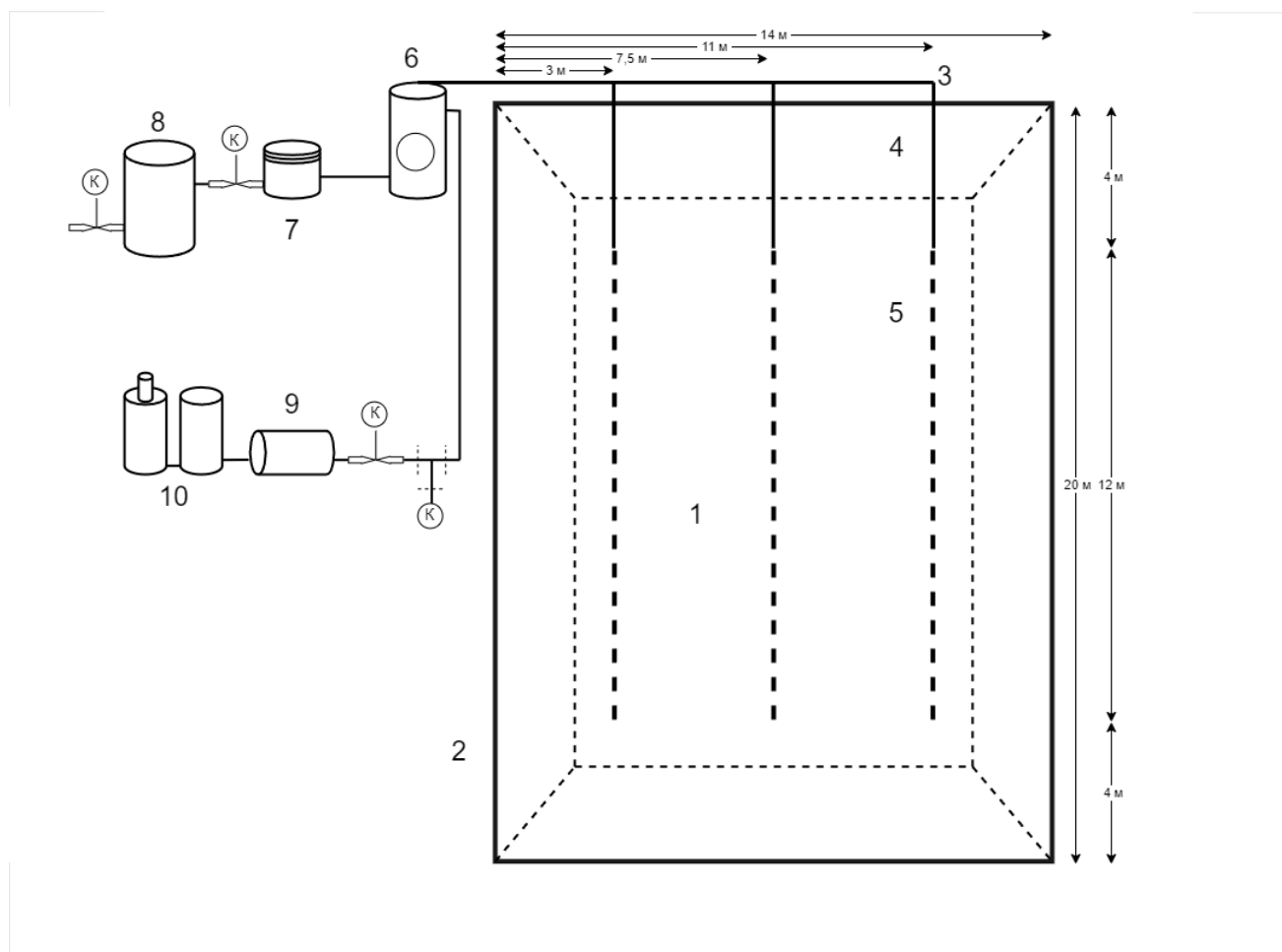


Рис. 5.1 – Загальна схема ділянки (1 – ділянка; 2 – захисний бар'єр; 3 – аераційні труби; 4 – неперфорована з'єднувальна труба; 5 – перфорована аераційна труба; 6 – сепаратор; 7 – фільтраційний насос; 8 – резервуар; 9 – повітродув; 10 – система очищення повітря)

Неперфорована з'єднувальна труба прокладається над стінками ділянки та безпосередньо під'єднана до вибухозахищеної повітродувки потужністю 1.5 кіловат із швидкістю потоку повітря 5 кубічних метрів на хвилину та встановленою таймером на роботу 16 годин на добу, щоб приблизно імітувати повітрообмін ґрунтового шару. Ця повітродувка розміщується за межами задньої стінки ділянки у центрі контролю, який також містить насос для рециркуляції води.

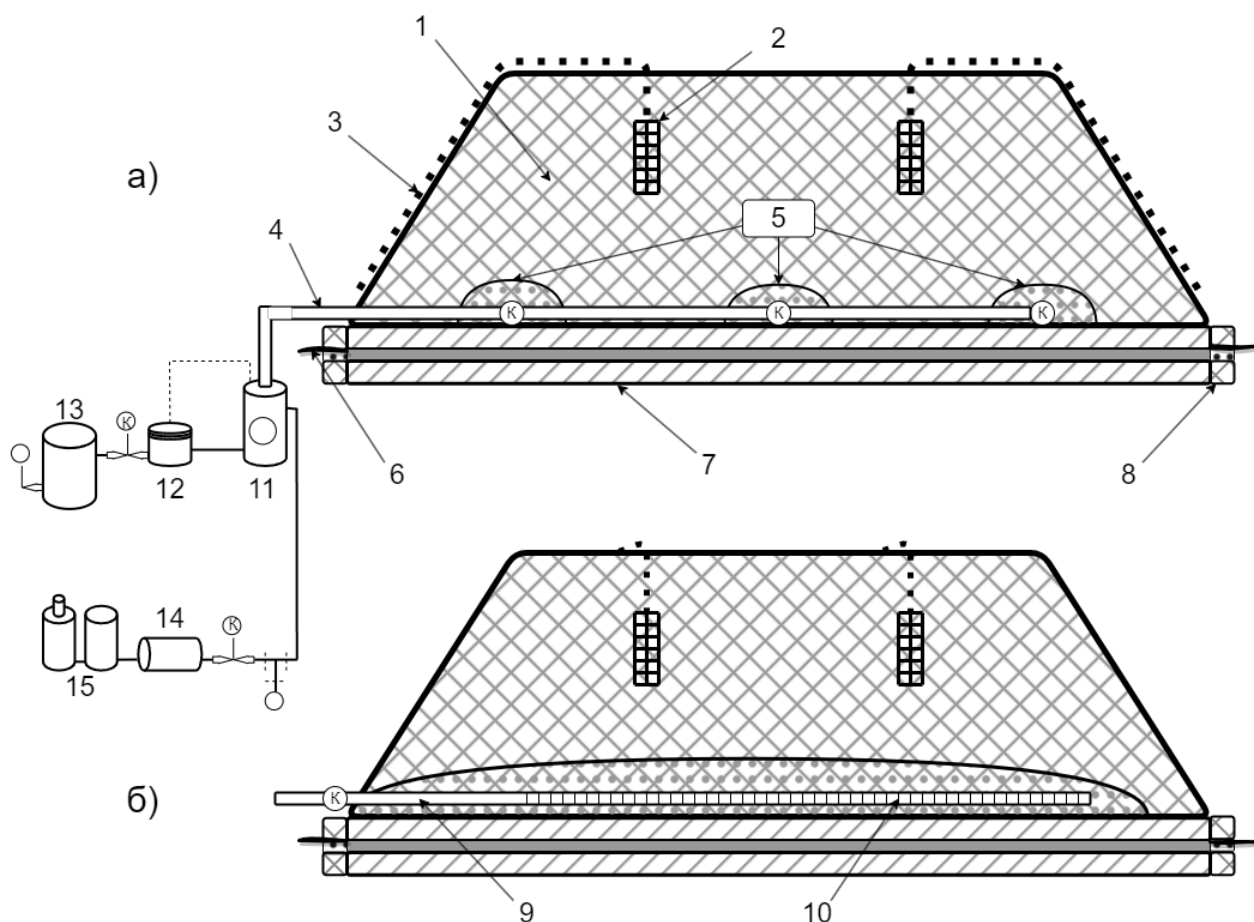


Рис. 5.2 – Розріз технологічної схеми, а) фронтальний вид, б) вид збоку, (1 – ЗНГ, 2 – точка моніторингу, 3 – кріплення точки моніторингу (кріплення швидкого з'єднання), 4 – колекторна труба, 5 – насип із дрібного гравію, 6 – облицювальний настил (HDPE), 7 – основа, 8 – кріплення настилу, 9 – неперфорована з'єднувальна труба, 10 – перфорована аераційна труба, 11 – сепаратор; 12 – фільтраційний насос; 13 – резервуар; 14 – повітродув; 15 – система очищення повітря)

Як правило, дно біомайданчика ущільнюють. По горизонтальній поверхні дна укладають плівку з поліетилену високого тиску, а на неї — дренаж у вигляді вафельного полотна. Завдяки цьому полотну поверхневі води рівномірно проходять через біомайданчик. Вафельна структура дренажу забезпечує надійний стік великої кількості води до приймача, звідки вона забирається насосом і знову розприскується по поверхні майданчика.

Насос працює за таймером, рециркулюючи рідину, яка збирається у зоні відстійника назад у біосховище. Насос підключається до відстійника за допомогою наземного шлангу (встановленого у зоні відстійнику) і монтується з одностороннім зворотним клапаном у точні всмоктування для підтримки напору рідини. Крапельний зрошувальний гумовий шланг, прикріплений до лінії живлення (постовий насос), розміщується поверх ділянки та подає рідину з насоса на ґрунт двічі на день протягом однієї години. Під час кожного поливу до ділянки вноситься приблизно 25 літрів води.

На початку підготовки ділянки, під час земляних робіт, за допомогою екскаватора вилучається приблизно 400-500 кубічних метрів ґрунту зі свіжовідкритої поверхні і складається поряд для подальшого використання. Накопичений ґрунт ретельно перемішується та частково поміщається у систему безпосередньо над аераційною трубою.

У розробці технологічної схеми вивчається вужчий діапазон умов експлуатації, ніж у проведеному експерименті, оскільки використання ґрунту чи біопрепарату буде наряду залежати від параметрів нафтошламу. Співвідношення компонентів перемішування «ґрунт-нафтошлам» (близько 1:1 – 1:2) залежить від якості і виду ґрунту, виду й кількості забруднень, але в основному визначається можливістю використання добрив, оскільки значний рівень концентрації потребує додаткових мінеральних речовин для повноцінного функціонування МН та рослин. Підготовлений у такий спосіб матеріал підлягає складуванню й витримці на біомайданчику. Поверхня, на якій розміщується майданчик, повинна розраховуватися на строк до двох років. За периметром майданчика формують земляний вал висотою близько 70-80 см.

5.2.2 Умови для висадження рослин та перемішування

Ґрунтосуміш складається на ділянці таким чином, щоб наближатися не до пірамідальної форми, а скоріше бути плоскою на поверхні, оскільки це місце готується для можливого подальшого висадження рослин.

ЗНГ необхідно очистити від сторонніх включень (деревини, пластмаси, сміття, великих каменів та ін.). При легких і пухких оброблюваних матеріалах ділянки додають субстрат для збільшення щільності суміші, при дуже важких, щільних і глинистих ґрунтах — навпаки. Перемішування гарантує зберігання вибраного співвідношення компонентів та оптимальне збагачення киснем.

Окремою проблемою є те, що деструкція в основному проходить в місцях накопичення мікроорганізмів у кореневій зоні рослин і через деякий час це призводить до утворення різних шарів ґрунту з різною концентрацією забруднення. Ефективність деструкції у дальніх шарах ґрунту знижується через недостатню розгалуженість там коренів, а у зоні коріння ефективність з часом також знижується через недостатню доступність вуглеводнів та підвищення агресивності стандартної мікрофлори, через знищення більшої кількості легких НВ, та невисоку ефективність МН проти поліциклічних вуглеводневих сполук. Вирішення обох проблем можливо двома способами, або їх комбінацією. По-перше, після закінчення вегетаційного періоду рослин можливе внесення додаткової концентрації нафтошламу для підвищення ефективності мікробіологічної деструкції до її попереднього рівня. По-друге, можливе перемішування шарів ґрунту для усереднення концентрації, що також підвищить ефективність деструкції. Комбінація цих методів може дати найкращий результат.

У звичайній практиці подібні маніпуляції перемішування проводять кожні 90-100 днів, оскільки вважається що це покращує аерацію та зменшує неоднорідність насипу [214]. Подібна методика у даній технологічній схемі може застосовуватися лише у випадку використання бактерій та добрив окремо від посіву рослин. У випадку висадження рослин при перемішуванні та перевертанні ґрунту, потрібно враховувати усі особливості пов'язані з цим додатковим процесом. Такі як вегетаційний період, можливість подальшого проростання чи необхідність додаткового підсіву.

Біомайданчик засівають рослинами для захисту від вітру і розмиву, а також для активації процесів фітостимуляції. У дослідженні найкращі

результати при 50% нафтошламу отримані з висівом насіння *Sorghum bicolor subsp. Drummondii*, *Galéga officinális* та *Sinapis arvensis*, а при 70% нафтошламу з насінням *Phleum pratense*, *Trifolium pratense* та *Medicágo satíva* спільно з біопрепаратом. Окрім цього, у літературних даних повідомляється про ефективність фітореMediaційних систем які використовують комбінований посів декількох культур, або підсів однієї культури до іншої з часом [214]. Також вважається, що рослини для фітореMediaції та фітостимуляції повинні бути придатними для загальних кліматичних умов місцевості та переносити умови стресу [155, 159]. Загалом, для фітореMediaції також можна використовувати місцеві рослин, особливо ті, які ростуть на забруднених ділянках [166, 167].

5.2.3 Забезпечення цілісності та ізоляції конструкції

Конструкція очисної ділянки планується таким чином, щоб враховувати можливість висіву рослин в умовах ізоляції від навколишнього ґрунтового покриття, а також необхідності дренажу та аерації для підтримання життєдіяльності МН. Конструкція ділянки загалом використовує базову схему звалищ і ставків, де злегка нахилена ділянка (для стоку) землі розчищається, ущільнюється та має бар'єри по сторонам у вигляді земляного валу, побудованого для формування «зони для зберігання». Подібні бар'єри та ущільнення проєктуються на периферії очисної споруди та використовуються для стримування у подібних проєктах [216].

Видалення вуглеводнів у даній технології при достатній тривалості може бути практично повним. У літературних даних згадується, що уже через 3-4 місяці обробки майже повністю видаляються легкі вуглеводні при концентраціях 50-60 г/кг. Крім того, встановлено, що вже через 1-2 місяці залишкові вуглеводні практично не вимиваються водою [217].

Якщо ґрунтові умови майданчика перешкоджають використанню природного ґрунту для будівництва, то для первинної та вторинної герметизації

використовують поліетиленову плівку високого тиску та викладають дно із вафельного полотна для забезпечення дренажу. Також виготовлені матеріали використовують для укріплення меж земляного валу і забезпечення надійного утримання шкідливих речовин. Поліетилен високої щільності (HDPE) використовується як основний і вторинний облицювальний матеріал. Якщо використовувати інший тип підкладки, то вона повинна відповідати певним нормам, таким як стійкість до проколів, хімічну стійкість до ґрунту, що підлягає обробці, стійкість до ультрафіолетового випромінювання, легкість встановлення та ремонту (інакше може значно підвищитись ціна проведення робіт) та еластичність. Також важливо, щоб такий матеріал можна було різати та сплавляти відповідно до конкретних вимог до форми, і відносно легко ремонтувати. Підготовлений піщано-глиняний шар розміщується у верхній частині системи, де він виконує роль первинної захисної оболонки, забезпечує дренаж рідини під дією сили тяжіння в зону відстійника та надає транспортну поверхню для переміщення обладнання.

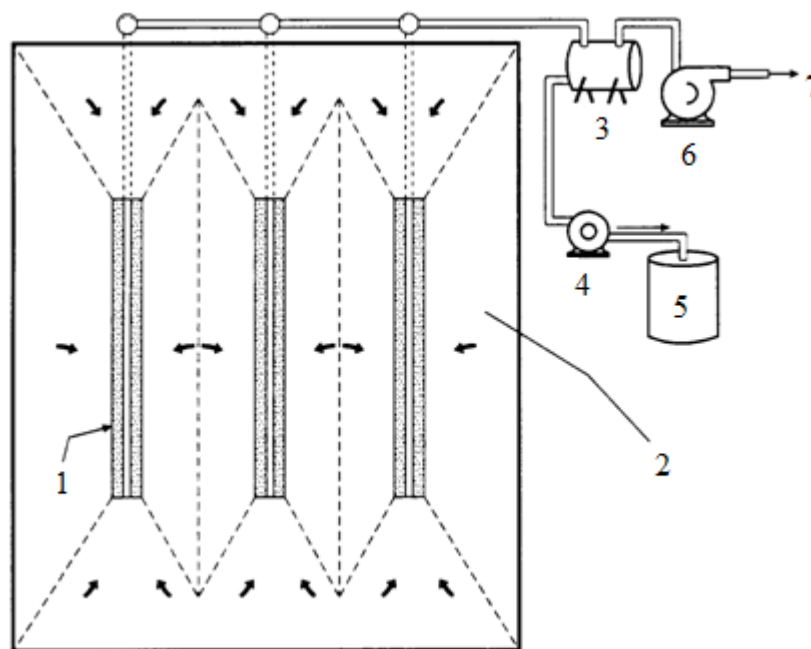


Рис. 5.3 – Комбінована система аерації та збору стоку рідини

(1 – облицювальний матеріал; 2 – бетонна площадка з нахилом (1-2%); 3 – сепаратор; 4 – фільтраційний насос; 5 – резервуар; 6 – повітродув; 7 – відхідне повітря)

Укладений облицювальний матеріал повинен забезпечувати бічний потік проміжних рідин і захист між двома шарами поліетилену до зовнішнього шару. Конструкція має двосторонній ухил, який складає 1-2%, до внутрішнього відстійника. Таким чином, будь-які опади будуть спрямовані до рециркулюючої труби, а зібрану рідину можна буде перенести до біосховища для підтримки вологості. Структура ділянки для обробки доповнюється системою аерації та колектора, системою рециркуляції води, доступом через ґрунтовий вал для транспортних вантажівок та обладнання, автомобільними вагами, офісом з лабораторними можливостями на місці, моніторингом ґрунтових вод мережі та огорожі для охорони території. Перевага надземної ділянки полягає в тому, що потреби в просторі для обробки ґрунту можуть бути мінімізовані порівняно з деякими іншими технологіями. Так, ділянка, яка використовує аераційні труби та повітродувки, може збільшити товщину зони обробки приблизно до 2-3 метрів, а ємність камери збільшити до понад 500 м³.

Різні нафтошлами можуть по-різному реагувати на ідентичні методи біоремедіації та МН [218]. Однак унікальні обставини певних родовищ на території України суттєво зменшують ці невизначеності, оскільки на більшій частині обмежена кількість забруднюючих речовин у відносно однорідній ґрунтовій матриці. Завдяки вдалому використанню методів вимірювання в режимі реального часу невизначеність може бути і надалі зменшена, оскільки можна отримати ще більш чітку картину рекультиваційного потенціалу без необхідності детальної характеристики нафтошламу на кожній ділянці в межах розробки одного й того ж самого родовища.

5.3 Додаткові (опціональні) складові технологічної схеми біоремедіації

5.3.1 Використання та рециркуляція добрив

Додатковим методом у даній технологічній схемі є можливість використання добрив. У експерименті були протестовані добрива на основі

фульвокислот, які показали значний вплив на процеси біодеградації при підвищеній концентрації нафтошламу. Використання добрив є досить дорогою процедурою, але підвищення концентрації нафтошламів, які водночас проходять процеси переробки та утилізації, може окупити подібні витрати. Добрива можуть бути попередньо перемішані з ґрунтосуміші у певному встановленому співвідношенні для кожного конкретного випадку або можуть вноситися до ґрунту разом із додаванням КМН.

Загалом, схема розраховується таким чином, що будь-яке розчинене добриво, яке могло бути вимите у процесі утилізації, буде повторно введено до ділянки через відстійник і пов'язаний з ним насос, який рециркулює будь-який зібраний фільтрат. Подібним чином може зберігатися і висока концентрація бактерій, що розкладають вуглеводні, оскільки добрива у фільтраті слугують безперервним джерелом енергії для МН, навіть для тих які знаходяться у процесі перекачки у трубі. Але недоліком такої системи є необхідність підтримувати певну температуру води, що піддається рециркуляції, задля забезпечення виживання МН та збереження ефективності добрив.

5.3.2 Моніторинг системи

У розробленому методі інтенсивного біологічного очищення ЗНГ умови для життя адаптованих МН оптимізують таким чином, що видалення вуглеводнів із ґрунту здійснюється за 12–24 місяці. Особлива увага при цьому приділяється виду, вологовмісту й гідрології ґрунту, вмісту в ньому живильних речовин і мікроелементів, визначенню параметрів шкідливих речовин та їхньої кількості, а також визначенню величини рН і наявності бактеріологічної отрути і речовин, які сповільнюють, блокують діяльність МН або перешкоджають їй.

Запропонована технологія обробки біодоповненням може використовувати комерційно доступні повітродувки, фільтраційні насоси, датчики вологи, датчики температури з термопарами та обладнання для моніторингу ґрунтового

газу в режимі реального часу, щоб забезпечити повноцінну та ефективну технологічну базу для роботи та моніторингу ділянки.

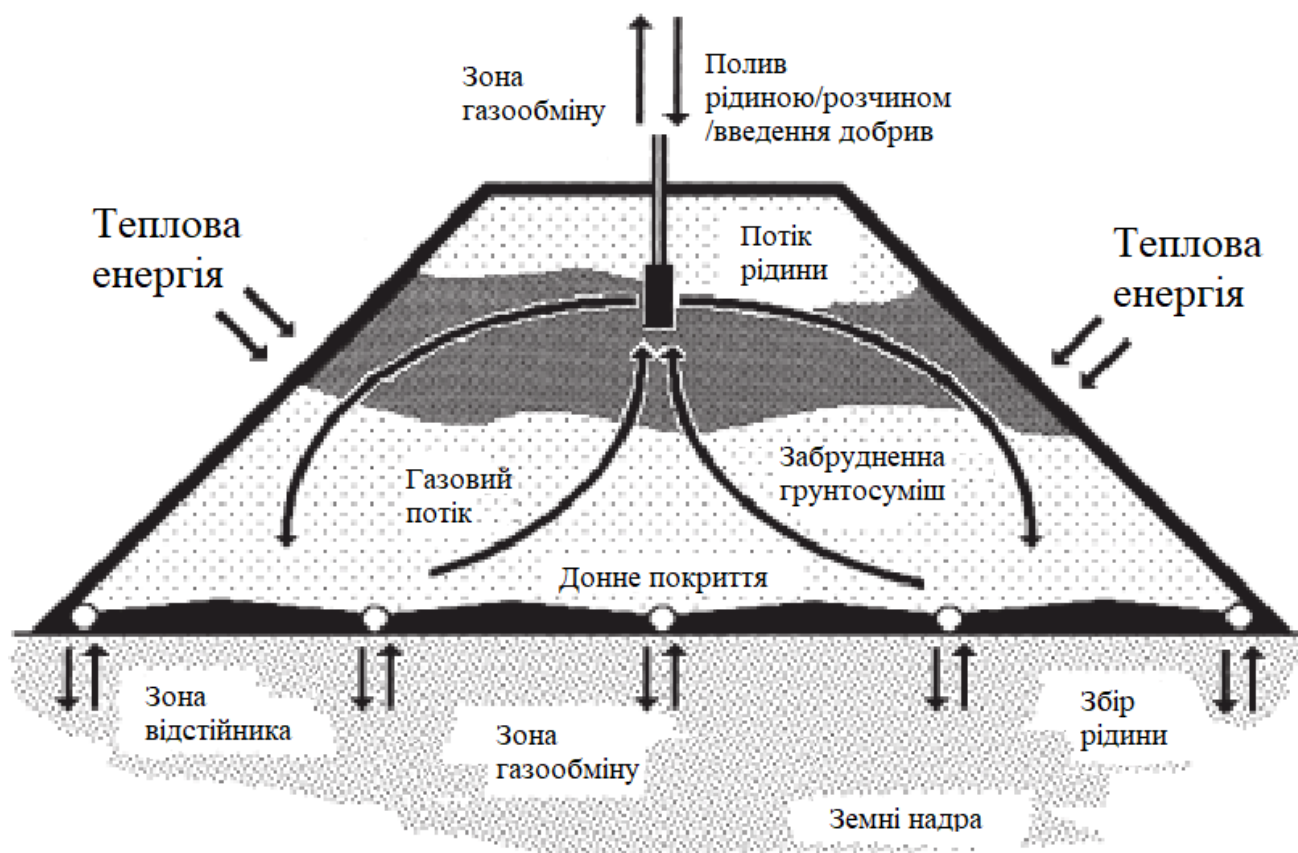


Рис. 5.4 – Загальна схема процесів у системі [90]

Періодично беруть проби, контролюють і регулюють надходження води, вміст кисню й живильних речовин. Точки моніторингу встановлюються усередині ділянки. Кожна точка споруджується з міцної полівінілхлоридної труби діаметром 25 мм, сплавленої з перфорованою секцією 0,50 м та розміщеної на дні труби. Перфоровані секції покриваються геотекстилем, а побудований пристрій поміщується на глибину 20-30% відносної висоти від основи ділянки. Пункти моніторингу встановлюються в трьох місцях, щоб виявити будь-які відмінності, які могли виникнути у ході експлуатації. За стандартом місця під контроль відводяться у ближньому центрі споруди, на краю верхньої частини та збоку від насипу суміші.

Таким чином, ефективність процесу очищення можна відстежувати і невеликі процеси у цілому можуть бути змінені з низьким ризиком для НПС, оскільки очисний відвал залишається над землею, у окремо виділеній ділянці,

захищений від вимивання та легко доступний для альтернативних методів поводження з відходами.

Загалом, вартість обробки одиниці об'єму ґрунту зменшуватиметься зі збільшенням кількості циклів обробки. Експлуатаційні витрати по суті є фіксованими для постійного рівня забруднення. Потрібна лише звичайна перевірка повітродувки та роботи зрошувальної системи, а витрати часу на кожну дію незначно відрізняються залежно від розміру очисної системи. Оскільки під час первинного тестування потрібен більш інтенсивний рівень моніторингу, ніж під час повномасштабних операцій, станції відбору проб можуть бути розташовані менш щільно; вимірювання температури, вологості та дихання можна проводити рідше; відбір проб і аналіз на забруднювачі можуть проводитися менш часто та менш регулярно для стабільних повномасштабних операцій. Програма постійного моніторингу є важливим компонентом технологій утилізації нафтошламу. Моніторинг використовується для оцінки темпів деградації та для визначення необхідності змін у системі чи під час експлуатації.

Як показано у роботах Leeson A. та Hinchee R., «дихальні тести» можуть бути якісним інструментом як попереднього тестування, так і моніторингу працюючої системи [219]. Параметри зразків ґрунтового газу встановлюють ефективність системи аерації та можуть бути використані для встановлення мікробної активності за допомогою тесту на дихання, оскільки концентрації O_2 і CO_2 у цих зразках в різних точках моніторингу можуть бути хорошим показником активності бактерій.

Дані моніторингу, зібрані під час процесу біодеградації, використовуватимуться для демонстрації прогресу, однак необхідність проведення базуватиметься на статистичній перевірці зібраних аналітичних даних (наприклад, зниження забруднюючих речовин до прийнятних рівнів чи темпи виробництва CO_2). Ці дані продовжуватимуть збиратися, доки ґрунт не відповідатиме необхідним критеріям, які зазначені у «ДСТУ 7875:2015» і будуть підтвердженні протягом визначеного періоду часу. Очистку можна

продовжувати і після цього моменту, коли рівень небезпеки знизився до певного рівня (наприклад найменшого класу небезпеки), щоб забезпечити повне відновлення, однак це займе більше часу.

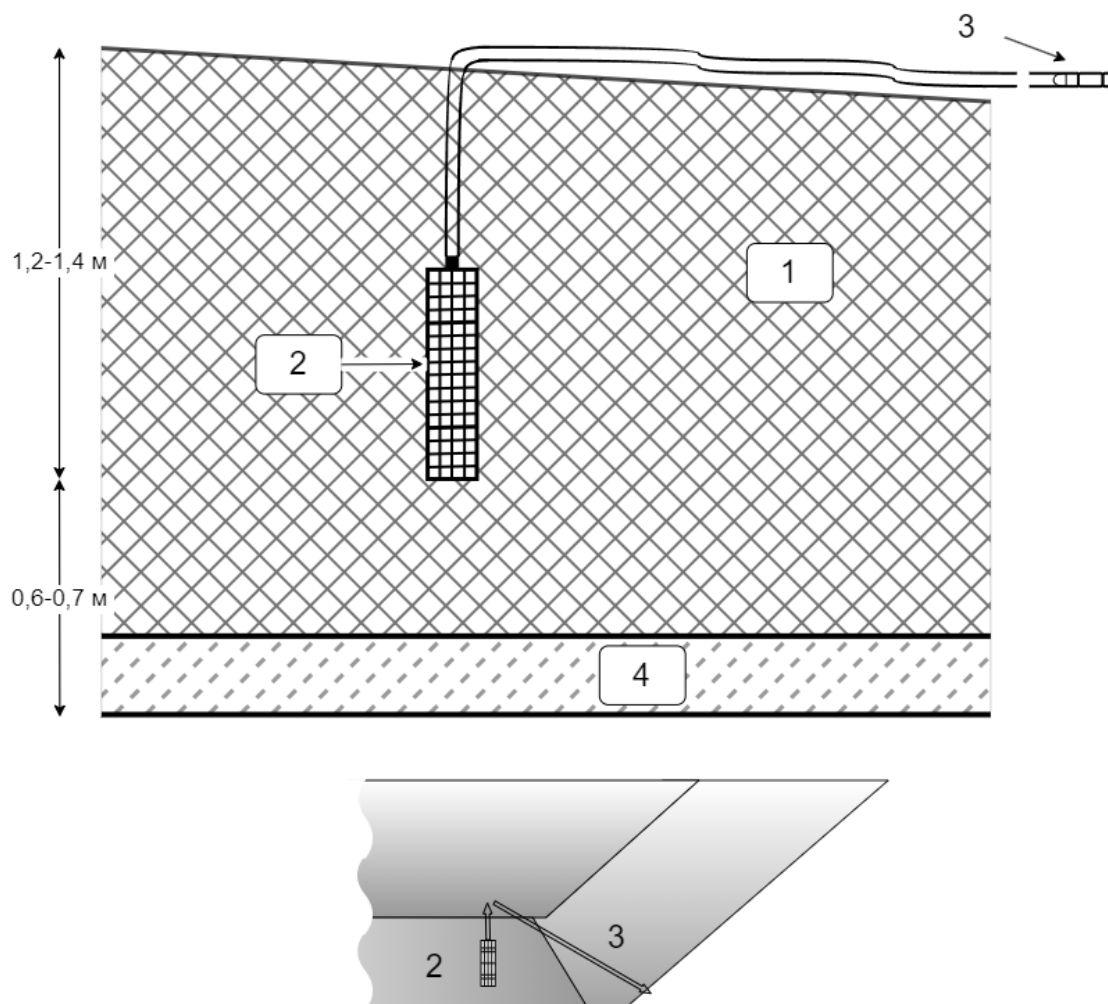


Рис. 5.5 – Розміщення точки моніторингу у системі (1 – ЗНІ; 2 – точка моніторингу; 3 – кріплення точки моніторингу (кріплення швидкого з'єднання); 4 – основа)

5.3.3 Контроль вологості

Також необхідно здійснювати моніторинг вологості за допомогою портативного датчика вологи або встановлених датчиків у певних точках системи. Таким чином, під час обробки можна досліджувати різні частини ділянки та визначати рівень вологості в усіх областях системи задля оптимізації охоплення зрошувального апарату протягом процесів утилізації.

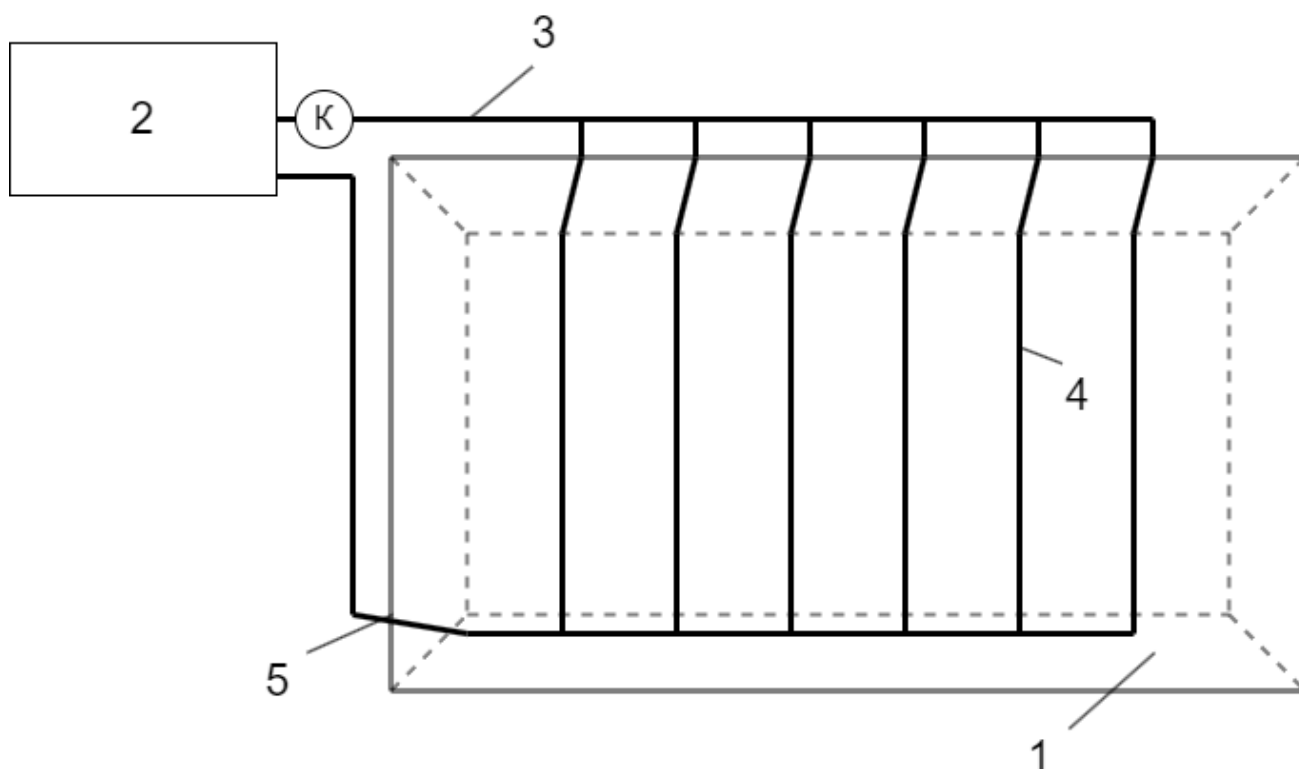


Рис. 5.6 – Схема дренажу ділянки (1 – ділянка розміщення ЗНІ; 2 – джерело водопостачання; 3 – трубопровід; 4 – система поливу)

Оскільки вплив ґрунтової води на біодеградацію є досить важливим, управління оптимальними умовами вологості під час обробки нафтошламу може підвищити загальну ефективність. Orchard V.A. та Cook F.J. встановили прямий зв'язок між мікробною активністю ґрунту та вмістом води в стендових масштабних випробуваннях; зменшення вмісту води призводить до зниження активності бактерій, а повторне зволоження викликає значне та швидке зростання активності [221].

Також відома лінійна залежність між мікробним утворенням CO_2 і вмістом води, незалежно від типу ґрунту, хоча при цьому умови екстремальної вологості є несприятливими для мікробного росту та метаболізму, так само як і для багатьох рослин [222]. Також потрібно передбачати істотну різницю в рівнях вологості ґрунту між експериментальними дослідженнями та реальною системою біодеградації, оскільки вологість майже неможливо настільки ж стабільно контролювати у великому масштабі.

Підвищення вологості шляхом рециркуляції не буде повністю рівномірним, оскільки буде інтенсивний вплив польових умов та нерівномірних опадів. Як правило, під час обробки вологість ґрунту повинна підтримуватися на рівні від 30 до 80 % польової ємності, у такому випадку вологість не буде обмежуючим фактором у процесі утилізації [223].

5.3.4 Температурні показники

Ефективність бактерій також залежить від температури. Встановлено, що мікробна активність ґрунту значно знижується при температурах нижче 10°C, тоді як максимальна швидкість біодеградації досягається при температурі від 20 до 30°C [224]. Тому проектування, будівництво та експлуатація планується таким чином, щоб система функціонувала у межах цього діапазону температур. Сонячна радіація та зміни температури повітря створюватимуть градієнти температури, які спричинятимуть природні конвекційні потоки повітря через систему.

Крім того, біореакції нафтодеструкції є екзотермічними, тому мікробна активність також сприяє нагріванню ділянки. Усі ці моменти повинні бути враховані, оскільки температура впливає на властивості потоків повітря, такі як в'язкість, капілярний тиск чи відносна проникність [226].

Температура ґрунту також змінюється залежно від температури НПС, так, протягом року будуть певні періоди, коли ріст бактерій і, отже, розпад вуглеводнів зменшуватимуться через низькі температури. Коли температура НПС повернеться до оптимального діапазону росту, активність бактерій поступово відновиться [224]. Це важливий фактор для використання технології, яка враховує розміщення ділянки на відкритому просторі. Зазвичай найбільш важливими засобами моніторингу є трубки для відбору проб газу в купі та термомпари для вимірювання температури.

5.3.5 Система аерації

Підібрані штами бактерій *Bacillus* перетворюють ароматичні й аліфатичні вуглеводні в нешкідливі діоксид вуглецю (CO_2) і воду (H_2O). Перетворення вуглеводнів відбувається в основному в аеробних умовах. Але оскільки товщина шару суміші «ґрунт-субстрат» становить 80–100 см потрібно одночасно здійснювати аерацію забрудненого матеріалу по всій поверхні знизу. Без аерації концентрація кисню у системі може бути недостатньою для підтримки аеробної деградації НВ [227]. Приблизно протягом першого тижню після початку процесу рівень кисню може дещо знизитися, що буде збігатися з невеликим підвищенням концентрації CO_2 через збільшення клітинного дихання та потреби у кисні. В цілому, у біодеградаційних процесах існує загальна кореляція між рівнями O_2 і CO_2 та їх зв'язком зі швидкістю деградації, при цьому немає прямої залежності, оскільки встановлено, що аеробна мінералізація пригнічується лише при дуже низьких концентраціях кисню у ґрунті [228].

На рівномірність аерації ділянки впливає її розмір і форма. Значна висота зазвичай потребує більш ніж одного рівня аераційних труб, що ускладнює процес будівництва і експлуатації. При встановленні багаторівневих систем аерації, аераційні труби пролягають поверх кожного шару ґрунту та покриваються наступним шаром, щоб труби розташовувалися на різній висоті усередині ділянки. Досвід [226], однак, показує, що один набір аераційних труб, розташованих у нижній частині, є достатнім для ділянок висотою приблизно до 3 метрів (Рис. 5.8). Аераційні труби необхідно розташовувати так, щоб вони не були здавлені землерийною технікою. Щоб уникнути ущільнення ділянки, землерийне обладнання ніколи не повинно рухатися по ґрунту розташованому усередині.

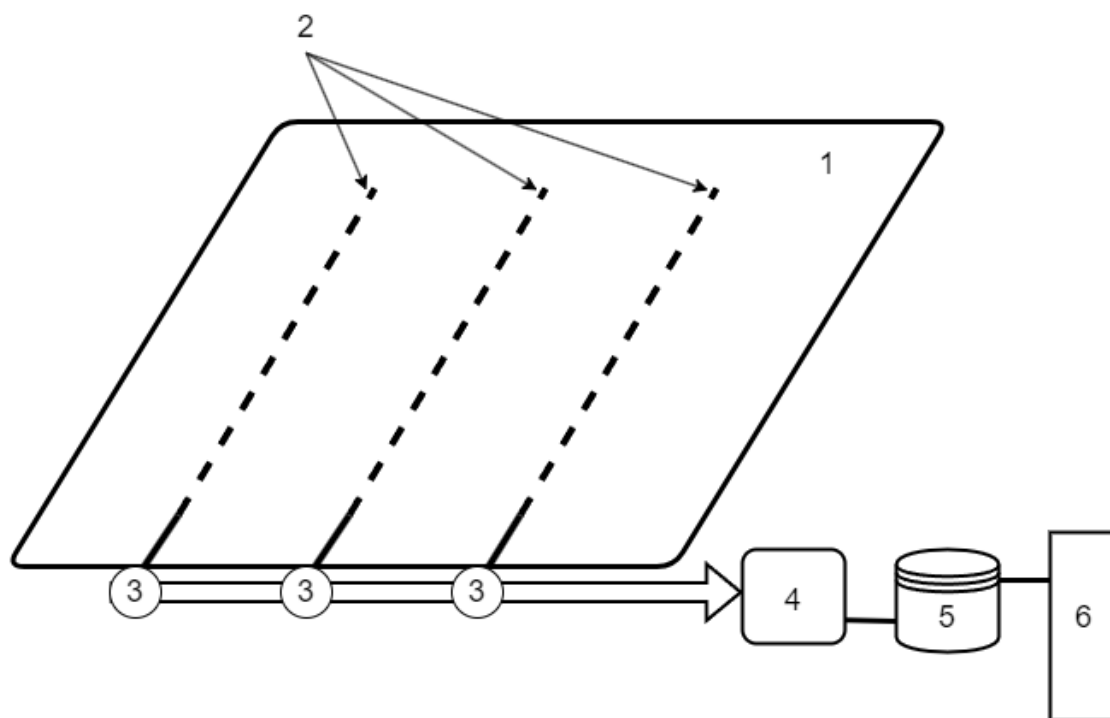


Рис. 5.8 – Розміщення аераційних труб на дні ділянки (1 – дно ділянки; 2 – аераційні труби; 3 – клапани; 4 – сепаратор; 5 – насос; 6 – резервуар)

У багатьох роботах стосовно біоремедіаційних процесів встановлювалось зниження споживання кисню з часом [229, 230]. Причину зниження пов'язують з біологічною активністю, оскільки внаслідок процесів переробки відбувається зниження біодоступності вуглеводів, які легко розкладаються, і при цьому відносного збільшення маси субстрату, який є більш стійким до впливу МН [229]. Саме цей процес зазвичай значно збільшує кількість часу необхідного для повноцінної утилізації та розкладання нафтошламів.

Однак, найважливішим є саме початок розкладання вуглеводнів, тому якщо бактерії проходять хоча б перший етап досліджень, вони зазвичай вважаються придатними до розкладання нафтопродуктів. При цьому, слід враховувати що для кожного окремого родовища зазвичай підбирають свій КМН, оскільки саме в такому випадку система показує найбільшу ефективність біодеструкції.

5.3.6 Можливість повторного використання ґрунту

Одним з найважливіших моментів для даної технології рекультивації є можливість повторного використання рекультивованих ґрунтів для нових проєктів біоремедіації шляхом перемішування нафтошлему з частиною уже очищених ґрунтів. Подібні дослідження проводились попередньо різними авторами, Makadia T. та Adetutu E. досліджували можливість повторного використання рекультивованих ґрунтів шляхом додавання в ці ґрунти осаду відпрацьованого масла в лабораторних мікрокосмах [232]. У даному випадку рівень зниження загального вмісту НВ був невисоким у природно ослаблених мікрокосмах, але, по-перше, значно краще, ніж у стандартному ґрунті, а, по-друге, був суттєво покращений біостимуляцією, біодоповненням та комбінованою обробкою біодоповнення та біостимуляції протягом 3-4 місяців. Це вказувало на те, що спостережене зниження вуглеводнів могло бути пов'язане з отриманим ґрунтом потенціалом розкладання вуглеводнів. Аналіз мікробної спільноти підтвердив домінування родів, що розкладають вуглеводні.

Так регенерований ґрунт після мікробіологічної обробки може використовуватися у подальшому повторно для перемішування з нафтошлемами, оскільки, як правило, повторне використання ґрунту із вмістом вуглеводнів 1000 мг/кг вважається припустимим (навіть ґрунт на вулицях, наприклад уздовж шосейних магістралей, містить до 2000 мг/кг нафтопродуктів) [232].

Отже, ґрунти, які раніше використовувалися для біоремедіації, можуть мати підвищений потенціал розкладання вуглеводнів, який можна успішно використовувати для нових проєктів. Можливість повторно використовувати цей потенціал є привабливою, оскільки вона суттєво знижує експлуатаційні витрати і при цьому не потребує додаткових процедур.

Окрім цього, захоронення відновлених ґрунтів на звалищах може бути значною тратою мікробних ресурсів, оскільки, згідно досліджень згаданих вище, оброблений ЗНГ може мати потенційно підвищену катаболічну здатність

до вуглеводнів. Але все ще незрозуміло, скільки разів цей потенціал можна використовувати і яка стратегія біоремедіації була б найбільш прийнятною для використання з точки зору ефективності, чи економічних та екологічних витрат. Тим не менш, у разі успіху метаболічна здатність раніше біоремедіованого ґрунту може бути використана для обробки нового забруднювача.

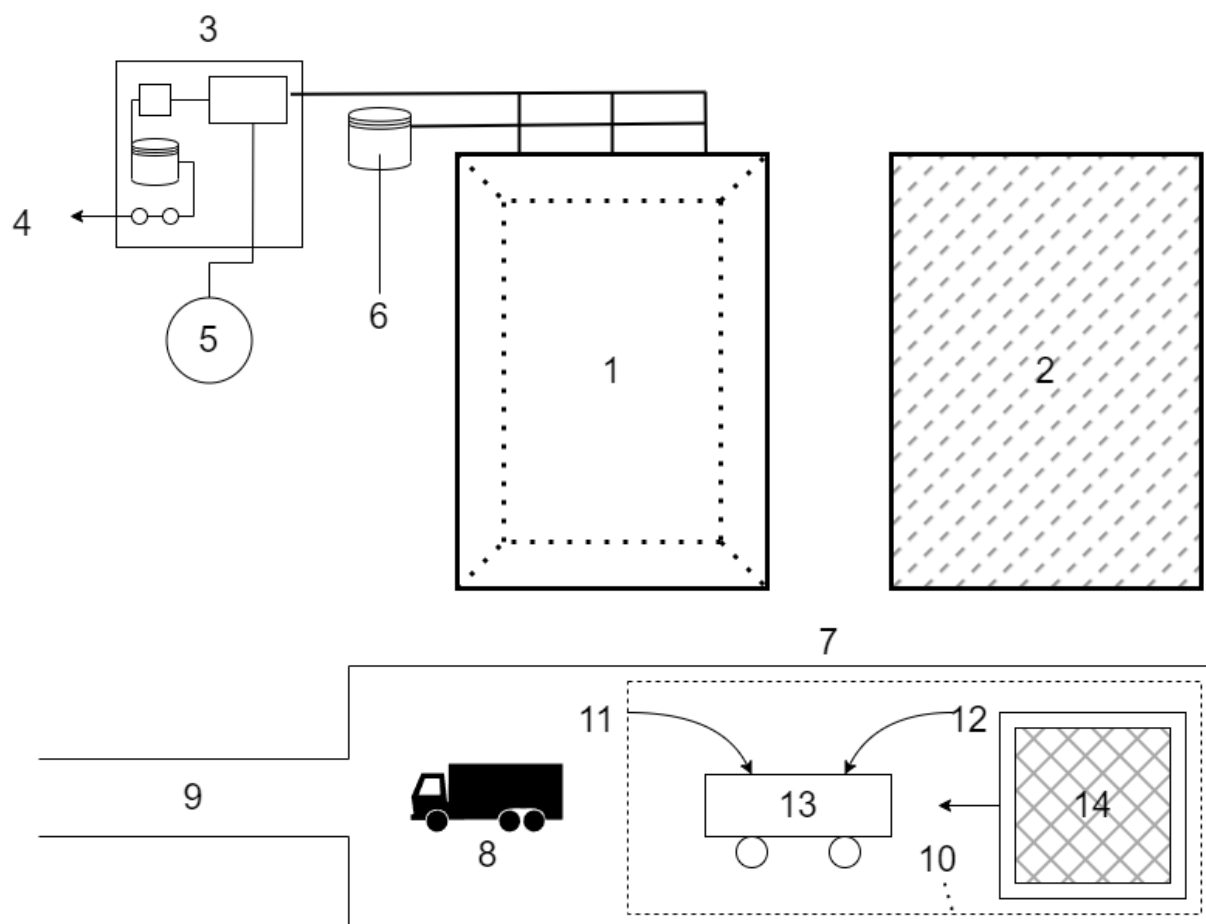


Рис. 5.9 – Розміщення майданчика для зберігання ґрунтосуміші (1 – ділянка проведення біоремедіації; 2 – майданчик для зберігання ґрунту; 3 – технологічне обладнання; 4 – відхідне повітря; 5 – резервуар; 6 – насос; 7 – зона обробки матеріалів; 8 – навантажувач; 9 – під’їзна дорога; 10 – опціональні конструкції; 11 – додавання добрив; 12 – додавання води; 13 – ґрунтозмішувач; 14 – подрібнювач ґрунту)

Незважаючи на ці обмеження, повторне використання очищених ґрунтів може мати вирішальне значення у використанні подібних технологій. Ця

стратегія біоремедіації покращує управління відходами та покращує управління землею. Частково також подовжує термін служби місць захоронення, оскільки менше ґрунту підлягає захороненню не лише через очистку нафтошлямових відходів або пониження їх класу небезпеки, але також і через те, що частина ґрунту постійно знаходиться у системі повторного його використання.

Розміщення ділянки (Рис. 5.10) планувалося на місці розташування минулого піщано-гравійного кар'єру. Ділянка, на якій передбачається будівництво розташована у Шишацькому районі Полтавської області в осьовій зоні центральної частини Дніпровсько-Донецької западини в межах північно-західного продовження Солохівсько-Диканського структурного валу.



Рис. 5.10 – Запланована ділянка для розміщення нафтошлямових відходів

Нажаль, роботи було призупинено у зв'язку з військовою агресією Російської Федерації проти України. Однак, впровадження проєкту технологічної схеми біоремедіації полігону складання нафтовмісних шламів буде продовжено після закінчення війни. Дослідження та експерименти за напрямом цієї тематики також буду продовжені – для уточнення технологічних параметрів процесу біоремедіації та удосконалення запропонованої технології.

Висновки до розділу

Основна мета цього розділу полягала в тому, щоб запропонувати нескладний, надійний процес, який включав би спрощені протоколи моніторингу та контролю при ефективному процесі оздоровлення ґрунту. Завдяки врахуванню літературної інформації, а також аналізу результатів власних досліджень, було підтверджено, що біологічна деградація є надійним і доцільним механізмом для зменшення забруднюючих речовин у нафтошламових відходах. Систематичне планування, підкріплене комплексним моніторингом у реальному часі забезпечить основу для виявлення та управління факторами та проблемами, які сприяють невизначеності під час операцій очистки. Важливою перевагою цього підходу є ступінь контролю над процесами, що використовуються для маніпулювання системою, цими факторами можна керувати в рамках довгострокової багаторічної рекультивації і це сприятиме стратегічному плануванню, яке знизить витрати на проєкт, забезпечуючи при цьому досягнення бажаних рівнів очищення довкілля.

Технологія розроблена з використанням методів та обладнання, подібних до тих, які передбачені для повномасштабної рекультивації, і як такі вони можуть моделювати багато проблем, очікуваних для повномасштабного впровадження, таких як обробка матеріалів, оптимізація та налаштування системи, а також використання реального часу та робочої сили.

Таким чином, дані, отримані у результаті дисертаційного дослідження, також можна використовувати як частину моделі для визначення відповідних стратегій біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів та утилізації нафтових шламів.

РОЗДІЛ 6

ЕКОЛОГО-ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕХНОЛОГІЇ БІОРЕМЕДІАЦІЇ

6.1 Соціально-економічна взаємодія

Впровадження заходів із переробки відходів нафтовидобутку, безсумнівно, насамперед спрямовано на зниження негативного впливу на довкілля. Проте, важливий і соціально-економічний ефект підприємства: зменшення плати за розміщення відходів; отримання прибутку від реалізації товарів утилізації; розширення інфраструктури; робітничих професій підприємства; створення додаткових робочих місць.

Кінцевою метою відновлювальних робіт є усунення ризиків для людини та НПС, запобігання розповсюдженню забруднення та відновлення багатофункціональності ділянки в найкоротші терміни. Зараз в Україні значна кількість нафтошламових відходів піддаються захороненню [233], що є досить неефективним методом у довгостроковому плануванні. Поточна екологічна політика України фактично змусить прийняти рішення проведення рекультивації ЗНГ та нафтошламових відходів через політичні, економічні чи корпоративні причини. Саме тоді й постане питання, які саме методи використати.

Методика біодоповнення обирається деякими компаніями, так як ця технологія, серед альтернатив, використовує недорогі матеріали та загалом відноситься до економічних методів, не потребує значної кількості високотехнічного обладнання та не є трудомісткою [234, 235].

Будівництво та експлуатація постійної ділянки значно розширить можливості у обраній області та буде вважатися реальною ініціативою з переробки ЗНГ. Однак, питання вартості все ще є основною перешкодою для використання подібних екологічно дружельюбних систем, і часто проєкти можуть стати економічно недоцільними, якщо не дотримуються ретельного

планування, реалізації та експлуатаційного процесу. Важливим компонентом аналізу запропонованої технології було усвідомлення того, що проєкт включатиме як витрати на будівництво на початку проєкту (наприклад, капітальні витрати), так і витрати в наступні роки, необхідні для впровадження та обслуговування об'єкта після початкового періоду будівництва, наприклад, витрати на експлуатацію та технічне обслуговування або поточні витрати на зарплатню персоналу.

У всьому світі багато екологічних компаній пропагують практику біоремедіації. Незважаючи на те, що значна кількість методів очистки може бути використана у якості підходу поводження з нафтошламами, деякими перевагами улаштування біоремедіаційної ділянки є те, що вона включає безпечні, надійні методи, які призводить до прямої вигоди від зниження рівнів НЗ до прийняттого ризику, і що умови можуть бути доповнені, якщо необхідно, для посилення та прискорення деградації [236].

Успіх таких проєктів часто залежить від готовності різних регуляторних органів розглядати їх як альтернативу для відповідних підприємств. Існуючі місцеві потреби у реконструкції очисних комплексів чи новій необхідності рекультивації забруднених ділянок, а також довгострокові потреби в очищенні території можуть бути використані як логічний аргумент для підтримки плану впровадження подібних технологій. Сприйняття громадськістю та урядом екологічних технологій загалом позитивне і невід'ємна перевага перед конкуруючими технологіями полягає в тому, що шкідливі компоненти більше не присутні в ґрунті у підвищених концентраціях після обробки.

Після перевірки того, що рекультиваційна ділянка має потенціал для ефективності, оцінка конструкції системи (наприклад географічний аналіз) та план дій направляються на обговорення та обґрунтування проєкту, створення концептуального інженерний проєкту, повноцінного економічного розрахунку та аналізу специфічних вуглеводневих забруднень родовища, оскільки однакових за параметрами нафтошламів просто не існує [218].

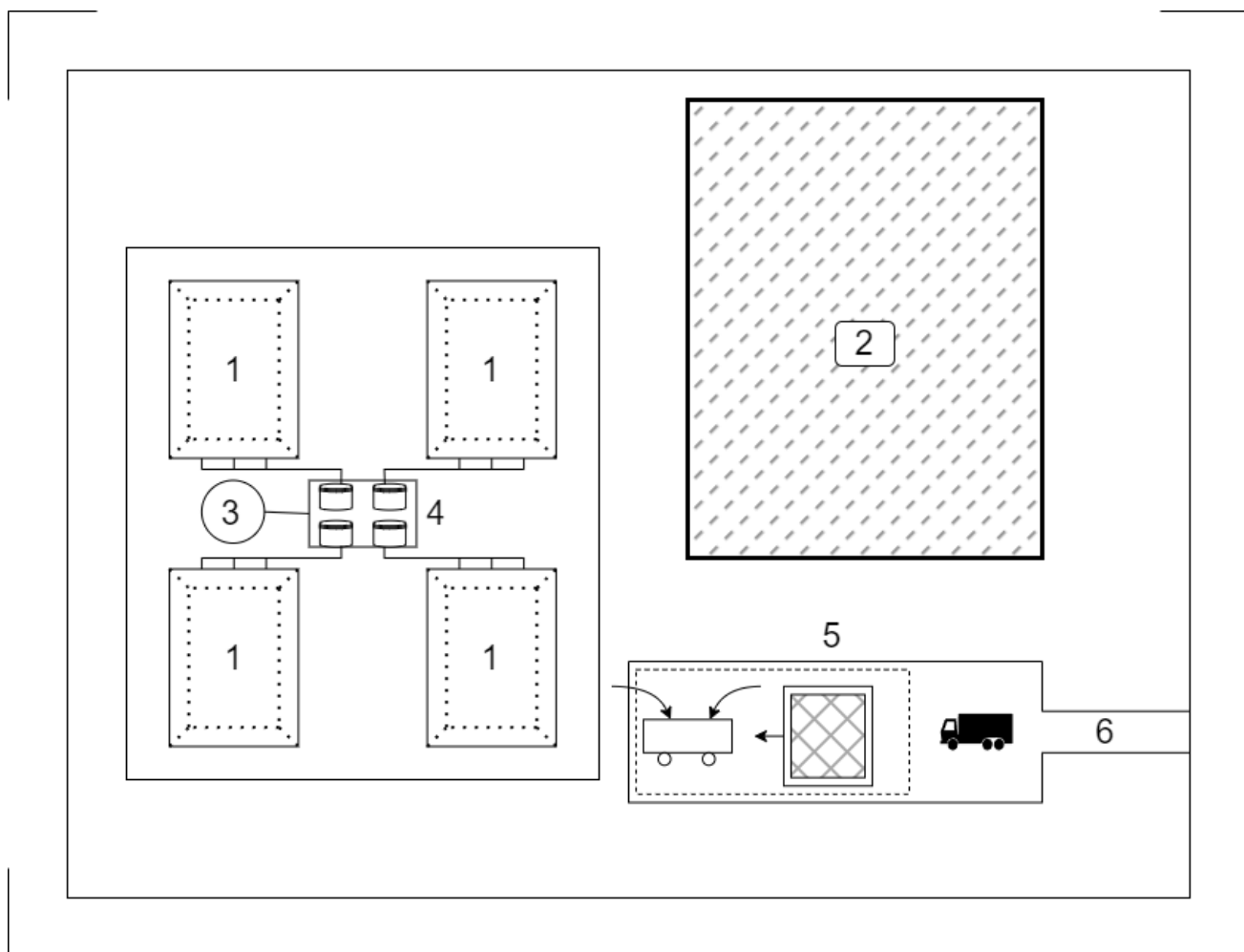


Рис. 6.1 – Розміщення декількох ділянок (1 – ділянки для проведення біоремедіації; 2 – майданчик для зберігання ґрунту; 3 – резервуар; 4 – насосна станція; 5 – зона навантаження та опціональних конструкцій; 6 – під’їзна дорога)

Поєднання загальних стратегій очищення на ділянках з ефективними бізнес-рішеннями може, за відповідних обставин, надати додаткові можливості для значної економії загальних витрат, а також зусиль, необхідних для отримання дозволів, або часу, необхідного для завершення проєкту. Найбільша економія коштів і часу досягається, коли рекультивація, землекористування чи повторне використання можуть бути узгоджені з бізнес факторами. Наприклад, у США та Канаді такий бізнес-стратегічний підхід до заходів з ремедіації, виходячи із законодавства, зазвичай є метою відповідальних за об’єкти, на яких утворюється нафтошлам, тому що очікується, що цей підхід призведе до значної економії загального часу та витрат [237].

Завдяки ефективному управлінню робота на об'єктах «підвищення екологічності» у країнах Європи та Північної Америки може безперервно проходити від дослідження до відновлення та ліквідації. Завдяки ретельному попередньому плануванню та використанню швидких аналітичних технологій на місці – цілі дослідження та очищення можуть бути досягнуті з меншими витратами часу (і, отже, з нижчою ціною) у порівнянні з традиційними підходами планової економіки, які покладаються на вузьку, лінійну розробку етапів і завдань. Можливості відновлювальної обробки у межах підприємства на стаціонарних очисних спорудах є досить ефективними, оскільки процес отримання дозволів спрощується, якщо відходи обробляються в одному місці. Крім того, стаціонарний об'єкт може використовувати більшу територію та працювати на протязі більшої кількості часу, ніж мобільний об'єкт, таким чином пропонуючи своїм клієнтам зниження витрат на одиницю продукції за рахунок економії масштабу.

Проектування та подальше будівництво може бути прискорено завдяки тому, що фізична або юридична особа, на яку накладається відповідальність за поводження з подібними відходами найчастіше за все володіє значною кількістю придатної для будівництва землі навколо місця утворення відходів. Також багато з об'єктів, які можуть потребувати виділення місця під подібну ділянку, є експлуатаційними нафтогазовими об'єктами, до яких уже встановлено електроживлення та транспортний доступ.

Очікується, що ділянка обрана для очищення, матиме якісну мережу доступу по дорогах високого рівня, відсутність прилеглих приватних землевласників, відносно рівна та належним чином від'єднана від верхньої зони підземних вод. Однак, ґрунтові умови на місці можуть бути не придатними для будівництва чи захисту надр (наприклад, якщо місце складається в основному з піщано-мулового шару). У таких випадках потрібне додаткове розчищення та укріплення, що може зменшити економічність технології.

Біотехнологія зокрема може бути використана для очищення ґрунту від забруднень нафтопродуктами. Спосіб включає внесення в ґрунт вуглеводнів в

діапазоні концентрацій 10-60 г/кг ґрунту. Додатково вносять органічні добрива (в даному випадку фульвокислоти), взяті в кількості 0,1 - 0,5 г/кг ґрунту відповідно (потрібне розведення у концентрації 0,02 - 0,1%). Після внесення добавки здійснюють підтримку температурного та водного режимів ґрунту для забезпечення життєвої функції МН протягом не менше 3 місяців до залишкового зниження вмісту вуглеводневої фракції на 30-40%.

Технологія дозволяє здійснити більш ефективне очищення ґрунтів зі свіжим забрудненням нафтою та нафтопродуктами та скоротити час очищення. Оскільки експерименти проводилися зі свіжим забрудненням нафтопродуктами, цей спосіб рекомендується для очищення від свіжих нафтових забруднень, тобто тих, що знаходяться в НПС не більше 12 місяців, з концентрацією нафтопродуктів, що не перевищують 60 г/кг ґрунту.

6.2 Практична та економічна доцільність природоохоронних заходів з використанням технології біоремедіації

Можна з упевненістю сказати, що вартість є одним із найважливіших факторів для підприємств у прийнятті рішень поводження з відходами. Основним правилом рекультивації є максимізація вилученої забруднюючої маси за витрачені гроші. Оцінка економіки проєкту очищення безпосередньо пов'язана з цілями власника ділянки та обмеженнями, в рамках яких має виконуватися відновлення, будь то економічні, матеріальні чи технічні. Після того, як цілі та обмеження ділянки будуть чітко визначені, можна розробити низку можливих підходів і технологій утилізації, а кожен варіант можна оцінити на основі порівняння. Одним із найпотужніших інструментів порівняльного аналізу варіантів є техніко-економічний аналіз. Цей підхід поєднує оцінку технічної здійсненності та ефекту з урахуванням капітальних та експлуатаційних витрат протягом вибраного періоду часу [238].

Як правило, використання певних методик поводження з відходами призводить до зниження забруднення, але при цьому без безпосереднього

поліпшення економічних результатів діяльності підприємства. Розрахунок подібної економіки оцінює витрати на охорону НПС, а також містить методики оцінки шкоди, завданої здоров'ю людей, НПС та економіці країни, при цьому встановлює певні рівні екологічного податку для компенсації завданої шкоди.

Серед різних видів економічних оцінок впливу підприємств на НПС використовується оцінка екологічних витрат, яка викликана допущенням тих чи інших екологічних порушень (народногосподарські витрати). Фінансування та реалізація природоохоронних заходів вимагає витрат, які зазвичай малоокупні або неокупні зовсім, але відсутність подібних у стратегічній перспективі також тягне за собою збитки. Тому витрати зазвичай поділяються на дві основні складові. Перша складова — витрати, пов'язані зі здійсненням природоохоронних заходів, де можуть статися екологічні порушення. До таких належать витрати на попередження забруднень чи ерозійні заходи. Друга складова — відмова від природоохоронних заходів (або неналежний розмір їх виконання), що у свою чергу призводить до фінансових втрат від екологічних правопорушень.

Відповідно до Закону України «Про охорону природного навколишнього середовища» передбачено взаємозв'язок господарської та промислової діяльності підприємств (у даному випадку видобуток та підготовка нафти) з раціональним використанням природних ресурсів та заходами з охорони НПС та визначення джерел фінансування заходів щодо охорони довкілля (дотримання законних норм щодо захоронення забруднюючих речовин або пошук шляхів зменшення екологічного податку за допомогою застосування більш екологічних технологій) [239].

6.2.1 Техніко-економічне обґрунтування

Найважливішою складовою вигідності побудови ділянки є кількість забруднюючих речовин, які будуть знешкоджуватися за одиницю часу. Оцінку очікуваної річної продуктивності об'єкта важко передбачити, оскільки обробка

грунту залежатиме від типу ґрунту та типу НВ, присутніх у ґрунтосуміші, що підлягає обробці. Тим не менш, подібні проєкти були номінально засновані на обороті приблизно 1400 тонн на рік. Очікується, що тривалість обробки кожного циклу становитиме 12-24 місяці, протягом яких діятиме програма моніторингу, щоб забезпечити підтримку ефективності очистки.

Таблиця 6.1

Ціна матеріалів, використаних для конструкції ділянки (1000 м³)

Матеріал	Тип замовлення	Ціна/одиноцю (грн.)	Кількість	Вартість, (грн.)
Оброблені пиломатеріали	в одиницях	210,80	56	11804,80
Інструменти (болти, шайби, гайки для закріплення)	в одиницях	69,90	56	3914,40
Кронштейни для балок	в одиницях	31,58	56	1768,48
Поліетиленова підкладка високої щільності (HDPE)	в одиницях	60000,00	1	60000
Глина чи пісок для фундаменту	м ³	400,00	7	2800
Труба дренажна гофрована з перфорацією	м	65,00	30	1950
Торцеві заглушки для дренажної труби	в одиницях	239,00	3	717
Поліпропіленові труби для точок моніторингу	7 м	920,00	3	2760
Штуцери сполучні для труб	в одиницях	128,83	3	386,49
Засувки фланцеві для труб	в одиницях	1757,00	3	5271
Різьбові з'єднання поліпропіленових труб	в одиницях	299,90	6	1799,4
Втулки редукційні	в одиницях	140,00	3	420
Крестовини (трійник)	в одиницях	175,00	3	525
Коліна для трубних розв'язок (залежить від компонування ділянки)	в одиницях	95,00	3	285
Фільтр FWKO	в одиницях	6040,00	1	6040
Резервуар для води з двошаровим ребром	в одиницях	27220,00	2	54440

Продовження таблиці 6.1

Контролер для управління приладами	в одиницях	1209,00	1	1209
Волоконно-оптичний датчик	в одиницях	2765,50	3	8296,50
Насос вакуумний пластинчато-роторний	в одиницях	40369,00	1	40369
Склад для зберігання матеріалів	м ²	2500,00	20	50000
Щитоподібна дренажна мембрана	м ²	248,00	150	37200
Набори крапельного поливу	в одиницях	2200,00	4	8800
Термоконтроллер покрововий (контроль термопари)	в одиницях	12371,00	3	37113
Газоаналізатор Gas Tech промисловий	в одиницях	19945,00	2	39890
Разом прямі витрати з кошторисом у поточних цінах				3,777,591
Інші витрати – 3%				113,327
Накладні витрати (у тому числі інфляція та витрати на монтаж і складання засобів експлуатації технологічної схеми) – 25%				944,397
ПДВ – 19,5 %				736,630
Усього				5,571,946

Таблиця 6.2

Витрати на експлуатацію ділянки

Назва	Вартість, (грн./місяць)
Виплати робітникам	
Керівні посади	65,000
Технічне обслуговування	55,000
Оператори на місці	30,000
Допоміжний адміністративний персонал	35,000
Лабораторне тестування зразків	50,000
Водії	60,000
Некваліфіковані співробітники	25,000
Транспортування (без урахування виплати водіям)	20,000
Питомі витрати на технологічні суміші	43,500
Енерговитрати	55,000
Капітальний та профілактичні ремонти, заміна обладнання, амортизація (у середньому на місяць)	45,000
Інші витрати – 3%	16,500
Усього	495,000

Розмір чистого економічного річного ефекту:

$$E = (P \cdot M \cdot n) - \frac{C \cdot q}{k} \quad (7.1)$$

де, E – розмір чистого економічного річного ефекту;

P – нормована ставка податку на одиницю забруднюючої речовини;

M – кількість (в тоннах) ґрунтосуміші, що проходить обробку на ділянці за один рік;

n – коефіцієнт кількості нафтошламу в ґрунтосуміші;

C – експлуатаційні витрати за рік;

q – кількість ділянок виділених на обробку забруднення;

k – коефіцієнт масштабності проекту.

Наприклад, для ділянки з пропускною здатністю 1000 м³ економічний ефект складатиме:

$$E = (9474,50 \cdot 1400 \cdot 0.5) - \frac{5,940,000 \cdot 1}{1} = 6,632,150 - 5,940,000 = 692,150 \text{ грн./рік}$$

У разі десятикратного збільшення пропускної здатності, значна кількість експлуатаційних витрат, а також капітальних вкладень стає більш вигідною (загальний ремонт, витрати на персонал, транспортування чи оптові закупівлі).

Таким чином, для ділянки з пропускною здатністю 10000 м³ економічний ефект складатиме:

$$E = (9474,50 \cdot 14000 \cdot 0.5) - \frac{5,940,000 \cdot 10}{1.12} = 66,321,500 - 54,495,412 = 11,826,088 \text{ грн./рік}$$

Зіставивши потенційну економічну вигоду з капіталовкладеннями, можна розрахувати термін окупності ділянки:

$$T = \frac{S \cdot q}{k} : E \quad (7.2)$$

де, T – термін окупності;

S – загальна сума капіталовкладень.

Наприклад, для ділянки з пропускною здатністю 1000 м³ термін окупності складатиме:

$$T = \frac{5,571,946 \cdot 1}{1} : 692,150 = 5,571,946 : 692,150 = 8,05 \text{ років}$$

Отже, зі збільшенням об'єму переробки за допомогою рекомендованої технології зменшуються загальні витрати на одиницю нафтошламу. Тим не менш збільшення пропускної здатності буде вигідним лише у випадку, якщо нафтова промисловість уже є досить масштабною або планує інтенсивний розвиток, у іншому випадку додаткові ділянки будуть простоювати.

Таблиця 6.3

Витрати на одиницю забруднюючих речовин в залежності від пропускної здатності ділянки

Ємність, м ³	Кількість ділянок	Кількість циклів обробки	Тривалість обробки	Вартість, грн./т
500	1	2	48	9680,50
1000	1	1	24	8485,71
2000	2	1	24	8161,10
5000	5	1	24	7955,29
10000	10	1	24	7785,40

Перед порівнянням вартості з іншими методами обробки нафти та нафтопродуктів потрібно зауважити, що майже неможливо знайти точні дані щодо витрат на більшість з видів (значна кількість закритої інформації, приватні контракти чи відсутність вимог електронної звітності). Проте деякі варіанти все ж наведені в Таблиці 6.4.

Таблиця 6.4

Вартість різних методик поводження з нафтовим забруднення

Спосіб знешкодження	Вартість, грн./т
Термічне знешкодження	12,000 – 26,800
Застосування біореакторів	10,000 – 14,000
Екологічний податок	9,474
Пінна флотація	8,200 – 9,400
Біодоповнення	7,785 – 9,680

Таким чином, проведені техніко-економічні розрахунки застосування технології біоремедіації на основі мікробіологічного консорціуму «Деструктор НШ» вказують на її доцільність та економічну перспективність.

6.2.2 Екологічні субсидії

Відповідно до статті 17 Закону України «Про охорону навколишнього природного середовища» до діяльності яка субсидується державою належить така діяльність як будівництво і експлуатація очисних споруд, створення систем з замкнутими циклами або таких які включають утилізацію чи рекуперацію відходів, охорона та раціональне використання надр, охорона та відтворення фауни, а також розвиток маловідходних технологій [239].

У такому випадку передбачається фінансування (часткове) із державного бюджету для здійснення пріоритетних програм та проєктів, що мають першочергове, загальнонаціональне значення. Але, оскільки обсяг бюджетних коштів залежать від рівнів та темпів розвитку економіки України, потрібен пошук шляхів для того, щоб позабюджетне фінансування становило домінуючу частину витрат на здійснення природоохоронної політики. Для цього введена концентрація платежів за спеціальне використання природних ресурсів та за забруднення НПС, а ресурси, отримані від штрафів та компенсації шкоди, завданої внаслідок порушення законодавства, використовуються для підвищення екологічності певних типів діяльності.

Висновки до розділу

У розділі розглянуто технічні особливості та обґрунтування вартості обробки нафтошламу за допомогою представленої технології біоремедіації. Метою цього розділу була пропозиція відносно економної технології рекультивації нафтошламів. Можна зробити висновок, що ця методика переробки не тільки можлива, але й дозволить краще зосередитися на управлінні невизначеністю та прискореній оцінці відносних ризиків кожного рішення, оскільки кожна ітерація процесу розкопок/обробки/переробки доповнює базу знання.

Окремо у дисертаційній роботі розглянуто використання деградаційної здатності попередньо біоремедіованого ґрунту для обробки нового забруднювача було оцінено як альтернативу використанню природного ґрунту або захороненні на звалищі та порівняно з іншими стратегіями біоремедіації з точки зору економічності. Повторне використання ґрунту для обробки нового забруднювача додасть новий стимул до використання процесів природного очищення та забезпечить повноцінне використання вуглеводневої катаболічної здатності ґрунтів, забезпечуючи при цьому економічність та довговічність ділянки виділеної під обробку нафтошляму.

Загальні підходи, викладені в цьому дослідженні, дотримуються екологічних принципів і цілей, тобто сприяння сталому розвитку через збереження ґрунту та ініціативи з відновлення. Цілями рекультивації у виробничих зонах розробки родовищ та підготовки нафти буде очищення ЗНГ та нафтошлямів безпечним, швидким та ефективним способом. Рекультивація здатна призвести до опосередкованої вигоди від покращення благоустрою, екологічного стану території та економічної діяльності шляхом усунення забруднення та заохочення використання більш екологічних технологій.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено актуальне науково-прикладне завдання щодо розробки екологічно безпечної технології ремедіації ґрунту та утилізації відходів нафтовидобувної промисловості на основі комплексного використання мікробіологічного препарату, біодобрива та рослинної стимуляції процесів деградації нафтошламів.

Загалом, у ході дисертаційних досліджень отримано наступні результати:

1. Проведено аналіз рівня техногенної небезпеки нафтовидобувної промисловості та її впливу на довкілля, з оцінкою методів поводження з нафтошламовими відходами та детальним дослідженням процесів, які застосовуються у технологіях біоремедіації з використанням мікробних ценозів.

2. Встановлено пряму залежність між пригніченням морфометричних показників досліджуваних біоіндикаторних рослин при різних концентраціях нафтопродуктів у ґрунті та використанням розчину біопрепарату бактерій-нафтодеструкторів. Застосування новітнього біопрепарату «Деструктор НШ» дозволяє знизити загальний фітотоксичний ефект забрудненого ґрунту на 51,36 - 84,18% в залежності від початкових рівнів концентрації нафти та нафтопродуктів. Таким чином, експериментально доведено можливість використання біопрепарату на основі нових штамів мікроорганізмів роду *Bacillus* для біодеградації нафтових вуглеводнів в умовах ґрунтового забруднення.

3. Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено ефективність застосування добрив на основі фульвокислот у якості біостимулятора у комплексі з бактеріальним препаратом на підставі наявності в ньому необхідних поживних речовин для мікроорганізмів-нафтодеструкторів. При надвисокій концентрації забруднення (70% нафтового шламу відносно маси зразків) синергетичний ефект біопрепарату у комбінації з добривами дозволив знизити фітотоксичність з 70,27% до 36,81%. Таким чином, біопрепарат на основі штаму *Bacillus* у комбінації з добривом на основі

фульвокислот можуть бути використаними для комплексної біоремедіації ґрунту. Це покращує швидкість зростання рослин у нафтозабрудненому ґрунті, активуючи процеси фітостимуляції та ризодеградації, як за рахунок стимуляції росту рослин, так і за рахунок зниження фітотоксичності шляхом біодеградації.

4. Відповідно до хроматографічного аналізу фракційного складу ґрунту показано, що за 86 діб рекультивації 34,52% нафтошламу було еліміновано у разі використання добрив і 27,31% - без використання добрив. Таку ефективність ремедіації можна оцінити як задовільну, враховуючи високу вихідну концентрацію 50-70% нафтового шламу за масовим вмістом зразків і склад забруднювача, представленого легкими та важкими нафтовими вуглеводнями. Швидкість його деградації у дослідних зразках склала 0,233 г/добу при загальній масі зразків у ~70 г. Хроматографічний аналіз показав практично повну біодеградацію усіх основних легких фракції нафтошламу.

5. Розроблено та удосконалено основні технологічні етапи біоремедіації нафти та нафтопродуктів, представлено інноваційні пропозиції щодо оптимізації стандартних біоремедіаційних систем, розглянуто основні складові технології, такі як облаштування ділянки, умови висадження рослин, можливість перемішування ґрунтосуміші, використання і рециркуляція добрив, моніторинг системи, вологість, температура, аерація та повторне використання ґрунту для збільшення ефективності технології.

6. Розраховано еколого-економічну ефективність природоохоронних заходів із використанням запропонованої технології біоремедіації, визначено витрати в залежності від пропускної здатності ділянки, проведено порівняння вартості з іншими шляхами утилізації нафтових шламів.

7. Дані, отримані у ході дисертаційного дослідження, було використано для створення технології біоремедіації з розробкою комплексного біопрепарату-деструктору нового покоління «БіоФульво», що підтверджується актом впровадження. Результати роботи передані підприємству ТОВ НВП «КАРАТ-БІО» з метою подальшого впровадження також для проектування технологічної схеми біоремедіації полігону складання нафтовмісних шламів.

СПИСОК ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Системний підхід до підвищення екологічної безпеки нафтовидобувних територій: монографія/ І. Ю. Аблєєва, Л. Д. Пляцук. Суми : СумДУ, 2021. 275 с.
2. Jer N. Y., et al. Recent advances of biosurfactant for waste and pollution bioremediation: Substitutions of petroleum-based surfactants. *Environmental Research*. 2022. Vol. 212. P. 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113126>
3. Prabhakar M., Neelakanta S. K., Luiz R. F. New insights into the bioremediation of petroleum contaminants. A systematic review. *Chemosphere*. 2023. Vol. 326. P. 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.1383911>
4. Ramadass K., Megharaj M., Venkateswarlu K., Naidu R. Bioavailability of weathered hydrocarbons in engine oil-contaminated soil: Impact of bioaugmentation mediated by *Pseudomonas* spp. on bioremediation. *Science of The Total Environment*. 2018. Vol. 636. P. 968–974.
5. Sokolova V., Krusir G., Sagdeeva O., Gnizdovskyi O., Malovanyy M. 2021. Study of the Conditions for Accelerating the Composting Process when Adding Microbial Communities. *Journal of Ecological Engineering*. Vol. 22(3). P. 11-17. <https://doi.org/10.12911/22998993/132603>
6. Аблєєва І. Ю., Пляцук Л. Д., Трунова І. О., Яхненко О. М., Бережна І. О. Вплив біостимуляторів на мікробіологічний стан нафтозабруднених ґрунтів. *Науково-технічний журнал «Екологічна безпека та збалансоване ресурсокористування»*. Івано-Франківськ: ІФНТУНГ/ 2021. № 1(23). С. 73–83.
7. Petruk R., Katkov. M. Environmental safety management of substandard pesticide residues and remediation and reclamation of contaminated soil. *Environmental Problems*. 2019. Vol. 4. Iss. 3. P. 125-129.
8. Ablieieva. L., Plyatsuk L., Berezhna I., Malovanyy M. S. Biotechnological Reclamation of Oil-Polluted Soils. *Ecological Engineering & Environmental Technology*. 2021. Vol. 22(2). P. 27-38.
9. Xiaoli D., Jing L., Wenxia W., Shaohui G. Bioremediation of heavy oil contaminated intertidal zones by immobilized bacterial consortium. *Process Safety*

and *Environmental Protection*. 2021. Vol. 158. P. 70-78.
<https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.11.038>

10. Ablieieva I. Yu., Plyatsuk L. D., Liu T., Berezhna I. O., Yanchenko I. O. Decontamination of oil-polluted soils: Power of electronic bioinformatic databases. *Journal of Engineering Sciences*. Sumy : Sumy State University, 2022. Vol. 9(2). P. 9–16.

11. Харламова О. В., Мальований М. С. Теоретичні основи управління екологічною безпекою в умовах природно-техногенного навантаження. *Екологічна безпека*. 2012. № 1(1). С. 9-12.

12. Кіреєва Н. А. Ефективність застосування біопрепаратів для відновлення родючості техногенно-забруднених ґрунтів. *СНЦ РАН*. 2010. № 1 (4). С. 1023-1026.

13. Ллорі Дж., Петрук Р.В. Екологічно-безпечні методи відновлення територій і акваторій забруднених нафтопродуктами. V-й Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнародною участю. *Збірник наукових праць. Вінниця: ТОВ "Нілан-ЛТД"*. 2015. 223.

14. Пляцук Л. Д., Аблеева И. Ю. Использование биодеструкторов для снижения содержания нефтепродуктов в почве. *Екологія та промисловість*. 2018. № 1. С. 69–76.

15. Подолання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022: колективна монографія за ред. М. С. Мальованого, О. В. Степової, Полтава – Львів: НУПП імені Юрія Кондратюка, НУ «Львівська політехніка» — Дніпро: Середняк Т. К. 2022. 664 с.

16. Шестопалов О. В. Охорона навколишнього середовища від забруднення нафтопродуктами : навч. посіб. 2015. Харків : НТУ "ХПІ". 116 с.

17. Turlough F. G. Tactical problems with strategic consequences: A case study of how petroleum hydrocarbon suppliers support compliance and reduce risks in the minerals sector. *Resources Policy*. 2021. Vol. 74. P. 39-52.
<https://doi.org/10.1016/j.resourpol.2021.102310>

18. Бойченко С. Пластичні мастила. Властивості та якість. *Центр навчальної літератури*. Київ. 2021. 274 с.
19. Врагов А. Масообмінні процеси та обладнання хімічних і газонафтопереробних виробництв: навч. посіб. *Нафтогазова промисловість. Гірнича справа*. Львів. 2007. 284 с.
20. Тетельмін В. В. Захист навколишнього середовища в нафтогазовому комплексі: навч. посіб. *Довгопрудний*. 2009. 352 с.
21. Баженов В. А., Ісаєнко В. М., Сталкін Ю. М. та ін. Інженерна екологія: Підручник з теорії і практики сталого розвитку. *Книжне видавництво НАУ*. 2006. 492 с.
22. Alshammari J. S., Gad F. A., Elgibaly A. M., Khan A. R. Solid Waste Management in Petroleum Refineries. *American Journal of Environmental Sciences*. 2008. Vol. 4(4), P. 353-361.
23. Abbas S., Maqsood Z. T., Ali M. F. The Demetallization of Residual Fuel Oil and Petroleum Residue. *Petroleum Science and Technology*. 2010. Vol. 28 (17), P. 1770-1777.
24. Verma N. K. Managing Hazardous Wastes. Technical Assistance Consultant's Report: Report on Review of Hazardous Waste Management Regulations and Preparation of Training Module on Inventory of Hazardous Waste. Delhi, India: Asian Development Bank. 2009. 211 p.
25. Okparanma R. N., Mouazen A. M. Determination of Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) in Soils: A Review of Spectroscopic and Nonspectroscopic Techniques. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2013. Vol. 48 (6). P. 458-486.
26. Врагов А. Процессы и оборудование газоразделительных установок. *Нафтогазова промисловість. Гірнича справа*. 2005. 272 с.
27. Яремчук Р. Яремчук Я. Освоєння свердловин. Гірнича промисловість. *Металургія. Центр Європи*. 2007. 368 с.
28. Хлієва О. Я. Основи нафтогазової справи : навч. посіб. Вид. 2-ге, переробл. і допов. Одеса, 2017. 103 с.

29. Rojo F. Enzymes for aerobic degradation of alkanes. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* Springer. *Berlin Heidelberg*. 2020. P. 781-797.
30. Kwon T. S., Lee J. Y. Options for reducing oil content of sludge from a petroleum wastewater treatment plant. *Waste Management*. 2015. Vol. 33 (10). 937-940.
31. Tasciotti L., Alejo D., Romero A. Oil industry and road traffic fatalities in contemporary Colombia. *International Journal of Injury Control and Safety Promotion*. 2015. Vol. 17(1). P. 1-11.
32. Semple K. T., Morriss A. J., Paton G. I. Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. *European journal of soil science*. 2003. Vol. 54(4). P. 809-818.
33. de Souza E. S., Fernandes A. R., de Souza A. M., Sabino L. L. Alleoni L. F. Potentially toxic elements (PTEs) in soils from the surroundings of the TransAmazonian Highway. *Brazil, Environmental Monitoring and Assessment*. 2014. Vol. 187(1). P. 1-20. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4074-1>
34. Robertson S. J., McGill W. B., Massicotte H. B. Rutherford P. M. Petroleum hydrocarbon contamination in boreal forest soils: a mycorrhizal ecosystems perspective. *Biological Reviews*. 2007. Vol. 82(2), P. 213-240.
35. Tang J., Lu X., Sun Q., Zhu W. Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Vol. 149. P. 109-117. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.12.020>
36. Uhrie J. L., Drever J. I., Colberg P. S., Nesbitt C. C. In situ immobilization of heavy metals associated with uranium leach mines by bacterial sulfate reduction. *Hydrometallurgy*. 1996. Vol. 43(1). P. 231-239.
37. Beyenal H., Lewandowski Z. Dynamics of lead immobilization in sulfate reducing biofilms. *Water Research*. 2004. Vol. 38(11). P. 226-236.
38. Wang J., Yin J., Ge L., Shao J., Zheng J. Characterization of Oil Sludges from Two Oil Fields in China. *Energy and Fuels*. 2010. Vol. 24(2). P. 973-978.
39. Zhang Y. et al. Molecular Investigation of Crude Oil Sludge from an Electric Dehydrator. *Energy & Fuels*. 2011. Vol. 25(7). P. 316-324.

40. Bhaskar S, Supriyo R., Kaushik K. Bioremediation of oily sludge: A case base analysis to supply chain. *Resources, Environment and Sustainability*. 2020. Vol. 2. P. 225-233. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2020.100008>
41. O'Rourke D., Connolly S. Just oil? The distribution of environmental and social impacts of oil production and consumption. *Annual Review of Environment and Resources*. 2003. Vol. 28(1). P. 587-617.
42. Річний звіт підготовлений відповідно до стандартів Глобальної ініціативи звітності (GRI) та Цілей сталого розвитку (ЦСР) у рамках Глобального договору ООН (UN Global Compact). Нафтогаз. 2021. С. 44-110.
43. Cooper G. R., Cricchi G. Oil refinery waste disposal methods, quantities and costs. *Brussels: CONCAWE*. 1995. Vol. 1(95). 317 p.
44. Hu G., Li J., Hou H. A combination of solvent extraction and freeze thaw for oil recovery from petroleum refinery wastewater treatment pond sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 2015. Vol. 283. P. 832-840.
45. Silva R. C., et al. Studies on crude oil-water biphasic mixtures by low-field NMR. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 2012. Vol. 50(2). P. 85-88.
46. Simanzhenkov V., Idem R. Environmental issues facing in the petroleum refining industry. *Crude oil chemistry*. 2005. Vol. 1 (17). 286 p.
47. Luan M., Chen T., Han C. An effective process for removing organic compounds from oily sludge. *Journal of the Korean Chemical Society*. 2011. Vol. 55(5), P. 842-845.
48. Волкогон В.В., Надкернична О.В., Токмакова Л.М. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія; за ред. В.В. Волкогона. Київ: Аграрна наука, 2010. 464 с.
49. Yan J. N. Recent advances of biosurfactant for waste and pollution bioremediation: Substitutions of petroleum-based surfactants. *Environmental Research*. 2022. Vol. 212. P. 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113126>
50. Noor M. J., Saja M. A., Alaa K. M., Issam K. S., Talib M. A. Challenges in the implementation of bioremediation processes in petroleum-contaminated soils:

A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 2022. Vol. 18. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100694>

51. Кропивницька В.Б. Процес буріння свердловини як складна система з багатокритеріальними оцінками процесів. *Методи та прилади контролю якості*. 2018. № 2(41). С. 69-76. [https://doi.org/10.31471/1993-9981-2018-2\(41\)-69-76](https://doi.org/10.31471/1993-9981-2018-2(41)-69-76)

52. Mater L., et. al. Proposal of a sequential treatment methodology for the safe reuse of oil sludgecontaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. 2006. Vol. 136 (3). P. 967-971.

53. Giles H. Crude Oils. Significance of Tests for Petroleum Products. Eight ed. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International. 2010. 341 p.

54. Johnston E., Lim E., Roh H. Impact of upstream oil extraction and environmental public health: A review of the evidence. *Science of The Total Environment*. 2019. Vol. 657. P. 187-199. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.483>

55. Alshammari J., et. al. Solid Waste Management in Petroleum Refineries. *American Journal of Environmental Sciences*. 2008. Vol. 4(4). P. 397-405.

56. Shailubhai K. Treatment of petroleum industry oil sludge in soil. *Trends in biotechnology*. 2016. Vol. 4(8). P. 202-206.

57. Rahman K. S., Rahman T. J., Kourkoutas Y., Petsas I., Marchant R. Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. *Bioresource Technology*. 2012. Vol. 90(2). P. 159-168.

58. Hu G., Li J., Zeng, G. Recent Development in the Treatment of Oily Sludge from Petroleum Industry – A Review. *Journal of Hazardous Materials*. 2013. Vol. 261. P. 470-490.

59. Lima T. M., et. al. Oil Recovery From Fuel Oil Storage Tank Sludge Using Biosurfactants. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*. 2011. Vol. 2(4). P. 125.

60. Ayotamuno M. J., Okparanma R. N., Nweneka E. K., Ogaji S. O. Bio-remediation of a sludge containing hydrocarbons. *Applied Energy*. 2007. Vol. 84(9). P. 936-943.
61. Sattar S., et al. Composition, impacts, and removal of liquid petroleum waste through bioremediation as an alternative clean-up technology: A review. *Heliyon*. 2022. Vol. 8(10). P. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11101>
62. Кропивницька В. Б. Процес буріння свердловини як складна система з багатокритеріальними оцінками процесів. *Методи та прилади контролю якості*. 2018. № 2(41). С. 69–76.
63. Вирвїнський П.П. та ін. Технологія буріння : навч. посіб. Дніпропетровськ : НГУ. 2014. С. 3-19.
64. Топільницький П. Технологія первинної перероблення нафти і газу. *Львівська політехніка*. 2014. 468 с.
65. Сокур М.І. та ін. Екологічна безпека та економіка: монографія / за ред. О. А. Юрко, В. М. Чебенко, А. О. Касіч. Кременчук. 2020. С. 55-89.
66. ГОСТ 17.1.3.12-86. Охорона природи. Гідросфери. Загальні правила охорони вод від забруднення під час буріння та видобутку нафти та газу на суші.
67. Солодкий В.Д., Товажнянський Л.Л., Сакара Ю.Д. Основи екологічної безпеки: Навчальний посібник. Харків: НТУ «ХПІ», 2002. 176 с.
68. Kelly-Hooper F., et. al. Is it clean or contaminated soil? Using petrogenic versus biogenic GC-FID chromatogram patterns to mathematically resolve false petroleum hydrocarbon detections in clean organic soils: A crude oil– spiked peat microcosm experiment. *Environmental toxicology and chemistry*. 2013. Vol. 32(10). P. 2197-2206.
69. Alvarenga P., et. al. Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. *Environment International*. 2007. Vol. 33 (4). P. 505-513.

70. Singh R. P., Agrawal, M. Effects of sewage sludge amendment on heavy metal accumulation and consequent responses of *Beta vulgaris* plants. *Chemosphere*. 2007. Vol. 67(11). P. 229-2240.
71. Джура Н.М. Можливості використання рослинних тест-систем для біомоніторингу нафтозабруднених ґрунтів. *Біологічні студії / Studia Biologica*. 2011. № 3. С. 183-196.
72. Sumiahadi A., Acar R. A review of phytoremediation technology: heavy metals uptake by plants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2018. Vol. 142. P. 12-23.
73. Гродзинський Д. М., Шиліна Ю. В., Куцоконь Н. К. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи. *Фітосоціоцентр*. 2006. 60 с.
74. Bais H. P., Weir T. L., Perry L. G., Gilroy S. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*. 2006. Vol. 57. P. 233-266.
75. Романюк О. І., Шевчик Л.З., Ощাপовський І.В., Жак Т.В. Методика екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія*. 2016. № 24(2). С. 264–269.
76. Bardgett R. The biology soil. Acommunity and ecosystem approach. *Oxford University Press*. 2005. 242 p.
77. Станкевич В. В. Гігієнічні аспекти впровадження новітніх способів ліквідації нафтозабруднень ґрунту на прикладі біотехнології «ДУКАТм». *Гігієна населених місць*. 2012. № 59. С. 107-113.
78. Ramirez D., Dussan J. Landfarmed oil sludge as a carbon source for *Canavalia ensiformis* during phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2014. Vol. 11(5). P. 1197-1206.
79. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Аналіз доцільності використання добрив на основі фульвокислот при біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів. *Environment recovery and reconstruction: war context 2022*: матеріали

Міжнародної науково-практичної конференції (м. Полтава, 17-18 листопада). Полтава, 2022. С. 51-53.

80. Про оцінку впливу на довкілля : Закон України від 23 травня 2017 р. № 2059-VIII. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2059-19> (дата звернення: 18.06.2022).

81. Баландіна Л. П., Шабанова А. В. Оцінка якості рекультивації нафтозабруднених ґрунтів методом біотестування. *Екологія та промисловість*. 2007. № 11. С. 42-47.

82. Грицак Л. Р. та ін. Біоіндикаційні методи для потреб системного аналізу якості довкілля. *Тернопіль : Географія*. 2017. №2. С. 153-165.

83. Orooj S., Sayeda S., Kinza W., Alvina G. Phytoremediation of Soils: Prospects and Challenges. *Soil Remediation and Plants. Academic Press*. 2015. Р. 1-36. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799937-1.00001-2>

84. Губачов О. І. Особливості використання рослин для біотестування ґрунтів з метою визначення рівня екологічної безпеки промислових територій. *Наук. вісн. КУЕІТУ. Нові технології*. 2010. № 3 (29). С. 164–171.

85. Методика визначення токсичності води та водних витяжок із ґрунтів, опадів стічних вод, відходів за смертністю та зміною плодючості дафній. *Наук. вісн. КУЕІТУ. Нові технології*. 2001. 47 с.

86. Головка Е. А. Про методи вивчення біологічної активності торф'яних ґрунтів. Київ, 1971. С. 68-76.

87. IPIECA. Guidelines for Oil Spill Waste Minimization and Management. London, UK: International Petroleum Industry Environmental Conservation Association. (IPIECA)/Energy Institute. 2004. 52 p.

88. Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення: Закон України від 24 лютого 1994 р. № 4004-XII. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/4004-12> (дата звернення: 19.06.2022).

89. USEPA. Chapter IV: Biopiles. How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action

Plan Reviewers. *Washington, DC, USA: United States Environmental Protection Agency*. 2016. 228 p.

90. Moses J. R., Menaka P., Tapasya M. N. Sustainable landfilling of oily sludge. *Proceedings of the Workshop on Sustainable Landfill Management. Chennai, India*. 2003. Vol. 17(2). P. 172-191.

91. Snowden-Swan L., et al. Wet Waste Hydrothermal Liquefaction and Biocrude Upgrading to Hydrocarbon Fuels: 2021. *State of Technology*. 2022. <https://doi.org/10.2172/1863608>

92. Al-Otoom A., Allawzi M., Al-Omari N., Al-Hsienat E. Bitumen recovery from Jordanian oil sand by using petroleum cycles oil cuts. *Energy*. 2010. Vol. 35(10). P. 427-425.

93. Bhattacharyya J. K., Shekdar A. V. Treatment and disposal of refinery sludges: Indian scenario. *Waste Management & Research*. 2003. Vol. 21(3). P. 249-261.

94. Al-Futaisi A., Jamrah A., Yaghi B., Taha R. Assessment of alternative management techniques of tank bottom petroleum sludge in Oman. *Journal of Hazardous Materials*. 2007. Vol. 141(3). P. 557-564.

95. Sankaran S., Pandey S., Sumathy K. Experimental investigation on waste heat recovery by refinery oil sludge incineration using fluidised-bed technique. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2018. Vol. 33(5). P. 829-845.

96. EC. Integrated Pollution Prevention and Control: Reference Document on the Best Available Techniques for Waste Incineration. *European Commission*. 2006.

97. Jing G., Luan M., Chen T., Han C. An effective process for removing organic compounds from oily sludge. *Journal of the Korean Chemical Society*. 2011. Vol. 55(5). P. 842-845.

98. Nam K., Rodriguez W., Kukor J. J. Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by biodegradation combined with a modified Fenton reaction. *Chemosphere*. 2001. Vol. 45(1). P. 11-20.

99. Diya'uddeen B. H., Rahim S., Abdul A. R. Fenton oxidative treatment of petroleum refinery wastewater: process optimization and sludge characterization. *RSC Advances*. 2015. Vol. 5(83). P. 659-668.
100. Ball A. S., Stewart R. J., Schliephake K. A review of the current options for the treatment and safe disposal of drill cuttings. *Waste Management & Research*. 2012. Vol. 30(5). P. 457-473.
101. Mansurov Z. A., Ongarbaev E. K., Tuleutaev, B. K. Contamination of Soil by Crude Oil and Drilling Muds. Use of Wastes by Production of Road Construction Materials. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2001. Vol. 37(6). P. 441-443.
102. Monteiro S. N., Vieira C. M. F., Ribeiro M. M. Red ceramic industrial products incorporated with oily wastes. *Construction and Building Materials*. 2007. Vol. 21(11). P. 207-211.
103. Cambiella A., Benito J. M., Pazos C. & Coca, J. Centrifugal Separation Efficiency in the Treatment of Waste Emulsified Oils. *Chemical Engineering Research and Design*. 2006. Vol. 84(1). P. 69-76.
104. Zubaidy E. H., Abouelnasr D. M. Fuel recovery from waste oily sludge using solvent extraction. *Process Safety and Environmental Protection*. 2010. Vol. 88(5). P. 318-326.
105. Yang, L., Nakhla, G. & Bassi, A. Electro-kinetic dewatering of oily sludges. *Journal of Hazardous Materials*. 2005. Vol. 125(1–3). P. 130-140.
106. Elektorowicz M., Habibi S. Sustainable waste management: recovery of fuels from petroleum sludge. *Canadian Journal of Civil Engineering*. 2005. Vol. 32(1). P. 164-169.
107. Sandroni V., Smith, C. M. Microwave digestion of sludge, soil and sediment samples for metal analysis by inductively coupled plasma–atomic emission spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2002. Vol. 468(2). P. 335-344.
108. Robinson J. P., Snape C. E., Kingman S. W., Shang H. Thermal desorption and pyrolysis of oil contaminated drill cuttings by microwave heating. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2008. Vol. 81(1). P. 27-32.

109. Mutyala S., Fairbridge C., Pare J., Belanger R., Hawkins R. Microwave applications to oil sands and petroleum: A review. *Fuel Processing Technology*. 2010. Vol. 91 (2). P. 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.09.009>
110. Lai C. K., Chen G., Lo M. Salinity effect on freeze/thaw conditioning of activated sludge with and without chemical addition. *Separation and Purification Technology*. 2004. Vol. 34(1–3). P. 155-164.
111. Lin C., et. al. Freeze/thaw induced demulsification of water-in-oil emulsions with loosely packed droplets. *Separation and Purification Technology*. 2007. Vol. 56(2). P. 175-183.
112. Urbina R. H. Recent developments and advances in formulations and applications of chemical reagents used in froth flotation. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*. 2003. Vol. 24(2). P. 139-182.
113. Ramaswamy B., Kar D. D., De S. A study on recovery of oil from sludge containing oil using froth flotation. *Journal of Environmental Management*. 2007. Vol. 85(1). P. 150-154.
114. Al-Shamrani A. A., James A., Xiao H. Separation of oil from water by dissolved air flotation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2002. Vol. 209(1). P. 15-26.
115. Woo S. H., Park J. M. Evaluation of drum bioreactor performance used for decontamination of soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 1999. Vol. 74(10). P. 937-944.
116. Rizzo A. C. d. L., dos Santos R. d. M., dos Santos R. L. C., Soriano A. U. Petroleum-contaminated soil remediation in a new solid phase bioreactor. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2010. Vol. 85 (9). P. 1260-1267. <https://doi.org/10.1002/jctb.2425>
117. Khan F. I., Husain T., Hejazi R. An overview and analysis of site remediation technologies. *Journal of Environmental Management*. 2004. Vol. 71(2), P. 95-122.
118. Castaldi, F. J. Tank-based bioremediation of petroleum waste sludges. *Environmental Progress*. 2003. Vol. 22(1). P. 25-36.

119. Marín J. A., Moreno J. L., Hernández T., García C. Bioremediation by Composting of Heavy Oil Refinery Sludge in Semiarid Conditions. *Biodegradation*. 2006. Vol. 17(3). P. 251- 261.
120. Ramirez D., Dussan J. Landfarmed oil sludge as a carbon source for *Canavalia ensiformis* during phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2014. Vol. 11(5). P. 1197-1206.
121. Ramirez D., Collins D. C. Maximisation of oil recovery from an oil-water separator sludge: Influence of type, concentration, and application ratio of surfactants. *Waste Management*. 2018. Vol. 82. P. 100-110. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.016>
122. Домарацький Є., Базалій В., Козлова О., Домарацький О. Ефективність використання деструкторів целюлози для оптимізації факторів життя рослин соняшнику. *Техніка і технології АПК*. 2020. № 1. С. 18–21.
123. Thoma G. J., Lam T. B., Wolf D. C. A Mathematical Model of Phytoremediation for Petroleum-Contaminated Soil: Model Development. *International Journal of Phytoremediation*. 2003. Vol. 5(1). P. 41-55.
124. McCutcheon S. C., Schnoor, J. L. Overview of Phytotransformation and Control of Wastes. *Phytoremediation: Transformation and control of contaminants*. 2003. P. 416-423.
125. Chang C. Y., et al. Major Products Obtained from the Pyrolysis of Oil Sludge. *Energy & Fuels*. 2000. Vol. 14(6). P. 1176- 1183.
126. Shaw L. J. Biodegradation of organic pollutants in the rhizosphere. *Advances in applied microbiology*. 2003. Vol. 53. P. 1-47.
127. Olson P. E., Reardon K. F., Pilon-Smits E. H. Ecology of Rhizosphere Bioremediation. *Phytoremediation: Transformation and control of contaminants*. 2003. P. 320-329.
128. Singh A., Ward O., Kuhad R. Feasibility Studies for Microbial Remediation Hydrocarbon-Contaminated Soil. *Manual for Soil Analysis-Monitoring and Assessing Soil Bioremediation*. 2005. P 131-143.

129. Riser-Roberts E. Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical, and Chemical Processes. 2019. 580 p.
130. Алексєєв А. Ю. Пошук нових асоціацій мікроорганізмів - деструкторів нафти при низьких позитивних температурах. *Вісник ЦУЛ*. 2012. С. 10-15.
131. Назаров А. В., Іларіонов С. А. Потенціал використання мікробно-рослинної взаємодії для біоремедіації. *Біотехнологія*. 2005. № 5. С. 54-62.
132. Туманян А. Ф. Екологічні наслідки забруднення ґрунтів нафтою та нафтопродуктами при аварійних ситуаціях та способи рекультивації земель. *Технології нафти та газу*. 2011. № 3(74). С. 3-7.
133. Pao-Wen G., et. al. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2011. Vol. 65. P. 119-127.
134. Fritsche W., Hofrichter M. Aerobic Degradation by Microorganisms. *Environmental Processes-Soil Decontamination*. 2000. P. 146–155.
135. Atlas R.M. Microbial hydrocarbon degradation—bioremediation of oil spills. *Journal of Chemistry Technology and Biotechnology*. 1991. № 52. P. 149–156.
136. Dhiraj K. C., Jaisoo K. *Rhodococcus olei* sp. nov., with the ability to degrade petroleum oil, isolated from oil-contaminated soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2018. Vol. 68. P. 1749–1756.
137. Кіреєва Н. А., Рафікова Г. Ф., Галімзянова Н. Ф., Логінов О. Н., Кабіров Т. Р. Комплекс мікроміцетів нафтозабрудненого чорнозему вилуженого при рекультивації біопрепаратом Ленойл. *Микол. та фітопатол.* 2008. Т. 42. № 1. С. 57-63.
138. Позднякова Н. Н., Нікітініна В. Є., Турковська О. В. Біоремедіація нафтозабрудненого ґрунту комплексом *Pleurotus ostreatus*. *Прикл. біохімія та мікробіол.* 2008. Т. 44. № 1. С. 69-75.
139. Самсонова А. С., Алещенкова З. М., Сьомочкіна Н. Ф. Мікробний препарат «Родобел» для очищення ґрунту від нафти. *Біотехнологія - стан та перспективи розвитку: Матеріали II Міжнар. конгресу*. 2003. Ч. 2. С. 40-41.

140. Лионг Т. М., Нечаєва І. А., Понаморєва О. Н. Вивчення емульгуючих властивостей бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти. *Актуальна біотехнологія*. 2014. № 3(10). С. 108-109.
141. Градова Н. Б., Горнова І. Б., Еддауді Р., Саліна Р. Н. Використання бактерій роду *Azotobacter* при біоре mediaції нафтозабруднених ґрунтів. *Прикладна біохімія та мікробіологія*. 2003. Т. 39. № 3. С. 318-321.
142. Коршунова Т. Ю., Логінов О. Н. Досвід застосування консорціуму мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів для знешкодження нафто відходів. Сучасні проблеми науки та освіти. *Біологічні науки*. 2014. № 3. 216 с.
143. Алешкевич Ю. С., Занін Д. Є., Касьянов Г. І., Назарько М. Д. Способи відновлення природних біоценозів ґрунтів. *Актуальна біотехнологія*. № 3(10). 2014. С. 100-103.
144. Філонов А. Е. Мікробні біопрепарати для очищення навколишнього середовища від нафтових забруднень в умовах помірного та холодного клімату: монографія. 2016. 453 с.
145. Sánchez O., Diestra E., Esteve I., Mas J. Molecular characterization of an oil-degrading cyanobacterial consortium. *Microbial Ecology*. 2005. Vol. 50(4). P. 580–588.
146. Горленко М. В., Сопрунова О. Б., Шадріна О. І., Терехов А. С. Комплексна оцінка ефективності ремедіації нафтозабруднених ґрунтів інтродукованою ціанобактеріальною спільнотою. *Біотехнології*. 2006. № 1. С. 38-44.
147. Liu C.X., Xu Q.M., Yu S.C., Cheng J.S., Yuan Y.J. Bio-removal of tetracycline antibiotics under the consortium with probiotics *Bacillus clausii* T and *Bacillus amyloliquefaciens* producing biosurfactants. *Science Total Environmental*. 2020. Vol. 7(10). P. 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136329>
148. Poulami D., Pankaj T., Lalit M. Isolation and characterization of biosurfactant producing and oil degrading *Bacillus subtilis* MG495086 from formation water of Assam oil reservoir and its suitability for enhanced oil recovery.

Bioresource Technology. 2018. Vol. 270. P. 439-448.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.047>.

149. Adams F. V., Niyomugabo A., Sylvester O. P. Bioremediation of Crude Oil Contaminated Soil Using Agricultural Wastes. *Procedia Manufacturing*. 2017. Vol. 7. P. 459–464. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2016.12.037>

150. Ossai I, Ahmed A, Hassan A. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. *Environmental Technology & Innovation*. 2019. Vol. 17. P. 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100526>

151. Aprill W. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*. 1990. Vol. 20. P. 253-265.

152. Brandt R. Potential of vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash) for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils in Venezuela. *Phytoremediation*. 2006. Vol. 8. P. 273-284.

153. Frick C. M. Assessment of phytoremediation as an in situ technique for cleaning oil-contaminated sites. *PTAC Petroleum Technology Alliance, Canada, Calgary*. 1999. 88 p.

154. Kaimi E. Screening of twelve plant species for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. *Plant Production Science*. 2007. Vol. 10. P. 211-218.

155. Терек О. І. Фізіологічні аспекти адаптації рослин до нафтозабрудненого ґрунту. *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку*. 2009. № 1. С. 217-225.

156. Цайтлер М. Й. Відновлення рослинного покриву і зміни структури ценопопуляцій трав'яних рослин на нафтозабруднених територіях Бориславського нафтового родовища. Дніпропетровськ, 2001. 16 с.

157. Джура Н. М. Вплив нафтового забруднення на вміст макро- та мікроелементів у рослинах *Carex hirta* L. *Укр. ботан. журн.* 2007. Т. 64, № 1. С. 122-131.

158. Yateem A. Plants-associated microflora and the remediation of oil contaminated soil. *Internation Journal of Phytoremediation*. 2000. Vol. 2(3). P. 183-191.
159. Джура Н. М. Перспективи фітореMediaції нафтозабруднених ґрунтів рослинами *Faba bona Medic.* (*Vicia faba L.*) *Вісник Львівського університету. Сер. біол.* 2011. № 57. С.117-124.
160. Frassinetti S. Biodegradation of dibenzothiophene by a nodulating isolate of *Rhizobium meliloti*. *Microbiology*. 1998. Vol. 44. P. 289–297.
161. Adam G. The effect of diesel fuel on common vetch (*Vicia sativa L.*) plants. *Environmental Geochemistry*. 2003. Vol.25. P. 123-130.
162. Kuiper I. Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. *Amer. Phytopathol. Soc.* 2004. Vol. 17(1). P. 6-15.
163. Спосіб очищення ґрунтів, забруднених нафтою : пат. 16345 Україна: МПК А01В 79/00, А01В 79/02, А01С 21/00. № а 2005 11816 ; заявл. 12.12.2005; опубл. 15.08.06, Бюл. № 8.
164. Кіреєва Н. А. Детоксикація нафтозабруднених ґрунтів під посівами Люцерни посівної (*Medicago sativa L.*). *Агрохімія*. 2004. № 10. С. 68-72.
165. Merkl N. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Water Air Soil Pollut.* 2005. 165. P. 195-209.
166. Fariba M., et al. Phytoremediation of petroleum-polluted soils: Application of *Polygonum aviculare* and its root-associated (penetrated) fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2010. Vol. 73(4). P. 613-619. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.08.020>. -218
167. Gramms G. Oxidoreductase enzymes liberated by plant roots and their effects on soil humic material. *Chemosphere*. 1999. Vol. 38(7). P. 1481-1494.
168. Величко О. Ефективність функціонування симбіотичної системи *Bradyrhizobium japonicum* - рослини сої у нафтозабрудненому ґрунті. *Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.* 2012. № 58. С. 150-157.

169. Njoku K. L. Growth and performance of Glycine max L. (Merrill) in crude oil contaminated soil augmented with cow dung. *Natural Science*. 2008. Vol. 6(1). P. 48-58.
170. Telysheva G. Use of plants to remediate soil polluted with oil. *Environment. Technology. Resources*. 2011. Vol. 1. P. 38-45.
171. Ting Y. P. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soil microcosms. *Resource and Environmental Biotechnology*. 1999. Vol. 2. P. 197–218.
172. Wolfe N. L., Hoehamer C. F. Enzymes Used by Plants and Microorganisms to Detoxify Organic Compounds. *Phytoremediation: Transformation and control of contaminants*. 2003. P. 128-141.
173. Lopez-Martinez S. Contaminated soil phytoremediation by *Cyperus laxus* Lam. cytochrome P450 Erod-activity induced by hydrocarbons in roots. *International Journal of Phytoremediation*. 2008. Vol. 10. P. 289-301.
174. Зенова Г. М., Звягінцев Д. Г., Широких І. Г. Структура комплексів актиноміцетів в торф'яниках, що рекультивуються. *Мікробіологія*. 1992. Т. 61. № 2. С. 323-329.
175. Alekseeva T. P., Burmistrova T. I., Stakhina L. D., Tereshchenko N. N. Efficiency of ameliorants based on activated peat for the restoration of oil-contaminated soils. *Biology*. 2013. Vol. 2(22). P. 43–51.
176. Aleksandar I., Amanda M., Ladislau M., Alberto C. C. Comparison of Sample Preparation Techniques for the (–)ESI-FT-ICR-MS Analysis of Humic and Fulvic Acids. *Environmental Science & Technology*. 2022. Vol. 56. P. 168-171. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01125>
177. Peijia Z., Hongjia Z., Guoqing W. Dose-Dependent Application of Straw-Derived Fulvic Acid on Yield and Quality of Tomato Plants Grown in a Greenhouse. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Vol. 12. P. 3-6.
178. Celia F., Denise M., Helen C. Biosurfactant microfoam: Application in the removal of pollutants from soil. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2015. Vol. 3(1). P. 89-94. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.12.008>

179. Femina C., Senthil K., Chitra B., Fetcia J. Stimulation of *Bacillus* sp. by lipopeptide biosurfactant for the degradation of aromatic amine 4-Chloroaniline, *Journal of Hazardous Materials*. 2021. Vol. 415. P. 364-384. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125716>
180. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Аналіз деструктивного потенціалу мікроорганізмів роду *Bacillus* у комбінації з фульвокислотами для ризодеградації нафтових вуглеводнів. *Екологічні науки: науково-практичний журнал*. 2023. № 1(46). С. 85-91. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2023.eco.1-46.15>
181. Блінова З. П. Біотестування ґрунтового покриву міських територій з використанням проростків *Raphanus sativus*. *Природні науки*. 2014. № 1. С.18-23.
182. Ашихмін Т. Я. Екологічний моніторинг: навч. посіб. Академічний проект, 2006. 416 с.
183. Бойченко С. Сучасний стан нормування природних втрат на об'єктах системи паливо забезпечення. *Поступ в нафтогазопереробній та нафтохімічній промисловості*. Львів, 2012. С. 39.
184. Rahman M. M., Siddique T. A., Samdani S., Kabir K. B. Effect of Operating Variables on Regeneration of Base-Oil from Waste Oil by Conventional Acid-Clay Method. *Chemical Engineering Research Bulletin*. 2008. Vol. 12. P. 24-27.
185. Dariush M. Assessing biotreatment of main fractions of petroleum waste in soil. *New Biotechnology*. 2016. Vol. 33. 142 p. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.06.1213>
186. Lekha D., Sunil K., Lal S., Rakesh K. A systematic review on options for sustainable treatment and resource recovery of distillery sludge. *Chemosphere*. 2021. Vol. 263. P. 128-225. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128225>
187. Mohammed R. R., Ibrahim I. R., Taha A. H., McKay G. Waste lubricating oil treatment by extraction and adsorption. *Chemical Engineering Journal*. 2013. Vol. 220. P. 343-351.

188. Nayak N.N., Purohit M.S., Tipre D.R., Dave S.R. Biosurfactant production and engine oil degradation by marine halotolerant *Bacillus licheniformis* LRK1. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2020. Vol. 29. P. 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101808>
189. Трохименко Г. Г., Недорода В. М., Почечуєв В. В. Використання рослинних тест-систем для визначення фітотоксичності забрудненого нафтопродуктами ґрунту. «Екологія. Довкілля. Енергозбереження»: матеріали II Міжнародної науково-технічної конференції (м. Полтава, 2-3 грудня). Полтава, 2021. С. 311-314.
190. Zhang B., Guo Y., Huo J., Xie H., Xu C., Liang S. Combining chemical oxidation and bioremediation for petroleum polluted soil remediation by BC-nZVI activated persulfate. *Chemical Engineering.* 2020. Vol. 1. 382 p. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123055>
191. Кім К. В., Канг С. Ю. Бактеріальна біосорбція мікроелементів. *Мікроелементи у навколишньому середовищі: біогеохімія, біотехнологія та біоремедіації*. 2009. № 3. С. 381-386.
192. Wang W. Use of millet root elongation for toxicity tests of phenolic compounds. *Enviromental International.* 1985. Vol.11. P. 95-98.
193. Grażyna P., et. al. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. *Chemosphere.* 2005. Vol. 59(2), , P. 289-296. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.049>
194. Лисиця А. В. Біоіндикація і біотестування забруднених територій. Методичні рекомендації. *Рівне : Дока-центр*, 2018. 94 с.
195. Matthieu N., Aurélia M., Bourane L. Philippe Hinsinger RHIZOtest: A plant-based biotest to account for rhizosphere processes when assessing copper bioavailability. *Environmental Pollution.* 2010. Vol. 158(10). P. 330–337.
196. Лісовицька О. В. Фітотестування: основні підходи, проблеми лабораторного методу та сучасні рішення. *Доповіді з екологічного ґрунтознавства*. 2010. № 1(13). С. 1-18.

197. Определитель высших растений Украины / за ред. Д. Н. Доброчаева, М. И. Котова, и др. Киев: Наук. думка, 1987. 548 с.
198. Kovalchuk T. V., Vladimir N., Valentyna L. Capillary gas chromatography. Kiev, 2009. 143 p.
199. Лисенко О. М., Ковальчук Т. В., Зайцев В. М. Основи газової хроматографії. *Київський ВПЦ*. 2014. С. 100-142.
200. Смирнова Т. С., Челознова К. В., Галкіна А. А. Застосування черв'яків енхітреїд у біодіагностиці стану міських ґрунтів. *Екологічні системи та прилади*. 2020. № 2. С. 15-22.
201. Hinehman R, Negri M., Gatlif E. In Phytoremediation : using green plants to clean up contaminated soil, groundwater and wastewater. *Nuclear and Hazardous Waste Management. Spectrum*. 1996. P. 1-13.
202. Pivetz B. E. Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground water at Hazardous Waste Sites. *EPA Ground Water Issue*. 2001. 36 p.
203. Wu M. L., Ye X. Q., Chen K. L., Li W., Yuan J., Jiang X. Bacterial community shift and hydrocarbon transformation during bioremediation of short-term petroleum–contaminated soil. *Environmental Pollution*. 2017. Vol. 223. P. 657–664.
204. Luo Y., Teng Y. Status of soil pollution degradation and countermeasures in China. *J. Soils*. 2006. Vol. 38. P. 505-508.
205. Недорода В. М., Трохименко Г. Г. Використання рослинних меліорантів для підвищення ефективності біоремедіації. Проблеми екології та енергозбереження: матеріали XV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 21-22 вересня). Миколаїв, 2023. С. 54-56.
206. Sayed K., et al. Potential biodegradation of Tapis Light Crude Petroleum Oil, using palm oil mill effluent final discharge as biostimulant for isolated halotolerant Bacillus strains. *Marine Pollution Bulletin*. 2021. Vol. 172. 110 p.
207. Wang X., Wang Q., Wang S. Effect of biostimulation on community level physiological profiles of microorganisms in field-scale biopiles composed of aged oil sludge. *Bioresource Technology*. 2012. Vol. 111. P. 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.158>

208. Nedoroda V., Trokhymenko G., Khrapko T., Koliehova A. Analysis of Petroleum Biodegradation by a Bacterial Consortium of *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Ecological Engineering*. 2021. Vol. 22(11). P. 36–42. <https://doi.org/10.12911/22998993/143017>
209. Kriipsalu M., Marques M., Nammari D. R., Hogland W. Bio-treatment of oily sludge: The contribution of amendment material to the content of target contaminants, and the biodegradation dynamics. *Journal of Hazardous Materials*. 2007. Vol. 148(3). P. 616-622.
210. da Silva L. J., Alves F. C., de França F. P. A review of the technological solutions for the treatment of oily sludges from petroleum refineries. *Waste Management & Research*. 2012. Vol. 30(10). P. 1016-1030. <https://doi.org/10.1177/0734242X12448517>
211. Adipah S. Introduction of Petroleum Hydrocarbons Contaminants and its Human Effects. *Journal of Environmental Science and Public Health*. 2019. Vol. 3(1). P. 1–9.
212. Lopez-Martinez S. Contaminated soil phytoremediation by *Cyperus laxus* Lam. cytochrome P450 Erod-activity induced by hydrocarbons in roots. *International Journal of Phytoremediation*. 2008. Vol. 10. P. 289-301.
213. Третяк А. М., Другак В. М., Колганова І. Г. Стандартизація та нормування у землеустрої : навч. посіб. *Агроосвіта*. 2013. Київ. 224 с.
214. Pacwa-Płociniczak M., Płaza G. A., Piotrowska-Seget Z., Cameotra S. S. Environmental Applications of Biosurfactants: Recent Advances. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011. Vol. 12(1). P. 633-654.
215. Муратова А. Ю., Бондаренко А. Д., Панченко Л. В., Турковська О. В. Використання комплексної фіторе mediaції для очищення ґрунту, забрудненого нафтошлямом. *Біотехнологія*. 2010. № 1. С. 77-84.
216. Yan P., Lu M., Guan Y., Zhang W., Zhang Z. Remediation of oil-based drill cuttings through a biosurfactant-based washing followed by a biodegradation treatment. *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102(22). P. 252-259.

217. Das N., Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*. 2011. P. 1-13.
218. Нафтошлами. Методи переробки та утилізації : монографія / за ред. Ф. Р. Хайдаров, Р. Н. Хісаєв, В. В. Шайдаков, Л. Є. Каштанова. 2003. - 74 с.
219. Leeson A., Hinchee R. Soil Bioventing Principles and Practice. Boca Raton, Lewis Publishers. 2022. 272 p. <https://doi.org/10.1201/9780138739379>
220. Недорода В. М., Трохименко Г. Г. Технічні особливості використання добрив у технології біоремедіації. Інновації в суднобудуванні та океанотехніці: матеріали XIV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 20-21 вересня). Миколаїв, 2023. С. 260-262.
221. Orchard V.A., Cook F.J. Relationship between soil respiration and soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry*. 2008. Vol. 15. P. 447-453. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.012>
222. Leirós M. C., Trasar-Cepeda C., Seoane S., Gil-Sotres, F. Dependence of mineralisation of soil organic matter on temperature and moisture. *Soil Biology and Biochemistry*. 1999. Vol. 31. P. 327-335.
223. Dibble J. T., Bartha R. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology*. 2019. Vol. 37. P. 729-739.
224. Hesnawi R.M., McCartney D. M. Impact of compost amendments and operating temperature on diesel fuel bioremediation. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 2006. Vol. 5(1). P. 37-45. <https://doi.org/10.1139/s05-015>
225. Davis E. L. Effect of temperature and pore size on the hydraulic properties and flow of a hydrocarbon oil in the subsurface. *Journal of Contaminant Hydrology*. 1994. Vol. 16. P. 55-86.
226. Seely G. E., Falta R. W., Hunt J. R. Bouyant advection of gases in unsaturated soil. *Journal of Environmental Engineering*. 1994. Vol. 120(5). P. 1230-1245.

227. Van De Steene J., Van Vooren H., Verplancke H. Evaluation of a quasi-steady-state respiration test in a full-scale biopile. *Water Air Soil Pollution*. 2007. Vol. 183. P. 403–413.
228. Hurst C. J., Sims R. C., Sims J. L., Sorensen D. L., Mclean J. E., Huling S. Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation as a function of oxygen tension in contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. 1996. Vol. 51. P. 193-208
229. Scow K. M., Hutson J. Effect of diffusion and sorption on the kinetics of biodegradation: theoretical considerations. *Soil Science Society of America Journal*. 2012. Vol. 56. P. 119-127.
230. Patterson B. M., Trefry M. G., Simonsson D. S., Davis G. B., Briegel D. Oxygen concentration monitoring and modelling of the Baldivis Tailings Facility: Consultancy Report. *CSIRO Land and Water, Perth, Western Australia*. 2019. 383 p.
231. Г. Г. Трохименко, В. М. Недорода. Технологічні етапи біоре mediaції забруднених нафтопродуктами ґрунтів на основі мікроорганізмів роду *Bacillus*. *Збірник наукових праць НУК*. 2023. № 2-3. С. 167-177. [https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3\(491-492\).20](https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3(491-492).20)
232. Makadia T. H., Adetutu E. M., Simons K. L., Jardine D., Sheppard P. J., Ball A. S. Re-use of remediated soils for the bioremediation of waste oil sludge. *Journal of Environmental Manage.* 2011. Vol. 92. P. 866–871. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.059>
233. Ніколаєва І., Ленько Г., Лободзінський О. Дослідження поточного стану хвостосховищ у басейні річки Дністер. РЕЗЮМЕ з інвентаризації хвостосховищ у басейні річки Дністер. Київ, 2020. С. 50-81.
234. Walter M.V. Bioaugmentation. In Hurst, C.J. (Ed.) *Manual of Environmental Microbiology*. ASM Press, Washington, D.C. 2009. P. 753-765.
235. Sakthipriya N., Doble M., Sangwai, J. S. Efficacy of *Bacillus subtilis* for the biodegradation and viscosity reduction of waxy crude oil for enhanced oil recovery from mature reservoirs. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*. 2016. Vol. 38 (16), P. 227-235.

236. Environment Agency. The UK approach for evaluating the human health risks from petroleum hydrocarbons in soils. (P5-080/TR3). *Bristol: Environment Agency*. 2015. 42 p.

237. USEPA. Chapter V: Landfarming. How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers. *Washington, DC, USA: United States Environmental Protection Agency*. 2016. 228 p.

238. Ahmed I.B., Nwaichi E.O., Ugwoha E. Cost reduction strategies in the remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. *Open Res Afr.* 2022. Vol. 5. 21 p. <https://doi.org/10.12688/openresafrica.13383.1>

239. Про охорону навколишнього природного середовища : Закон України від 25 червня 1991 р. № 1264-XII. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1264-12> (дата звернення: 21.03.2023)

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

Список опублікованих праць за темою дисертації

*Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації***Статті у наукових фахових виданнях, включених до міжнародної наукометричної бази даних Scopus і Web of Science**

1. Nedoroda V., Trokhymenko G., Khrapko T., Koliehova A. Analysis of Petroleum Biodegradation by a Bacterial Consortium of *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Ecological Engineering*. 2021. Vol. 22. Iss. 11. P. 36–42. <https://doi.org/10.12911/22998993/143017>

*Здобувачем проведено визначення робочої концентрації експериментального біопрепарату за допомогою дослідження впливу консорціуму мікроорганізмів *Bacillus* на фітотоксичність ґрунту, забрудненого нафтою та нафтопродуктами.*

2. Nedoroda V., Trokhymenko G., Magas. N. Bioremediation Possibilities of Oil-Contaminated Soil by Biosurfactant Based on *Bacillus* Strain. *Journal of Ecological Engineering*. 2022. Vol. 23. Iss. 8. P. 49-55. <https://doi.org/10.12911/22998993/150672>

Здобувачем досліджено можливість використання експериментального біопрепарату «Деструктор НШ» для біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів.

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Аналіз деструктивного потенціалу мікроорганізмів роду *Bacillus* у комбінації з фульвокислотами для ризодеградації нафтових вуглеводнів. *Екологічні науки: науково-*

практичний журнал. 2023. № 1(46). С. 85-91. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2023.eco.1-46.15>

Здобувачем експериментально підтверджено можливість застосування органічних добрив на основі фульвокислот підвищення ефективності процесу біоремедіації ґрунту.

2. Г. Г. Трохименко, В. М. Недорода. Технологічні етапи біоремедіації забруднених нафтопродуктами ґрунтів на основі мікроорганізмів роду *Bacillus*. *Збірник наукових праць НУК*. 2023. № 2-3. С. 167-177. [https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3\(491-492\).20](https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3(491-492).20)

*Здобувачем представлено інноваційні пропозиції щодо оптимізації стандартних біоремедіаційних систем з урахуванням особливостей застосування кумулятивного ефекту біопрепарату на основі мікроорганізмів роду *Bacillus*, рослин-фітеремедіантів та біодобрив.*

Монографії та розділи в монографіях

1. Трохименко Г. Г., Недорода В. М., Степова О. В. Оцінка ефективності *Bacillus Subtilis* при біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів за допомогою біотестування. *Подолання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022*: колективна монографія, за ред. М. С. Мальований, О. В. Степова. Полтава, 2022. С. 133-145. <https://doi.org/10.23939/monograph2022>

Здобувачем визначено особливості взаємодії мікробіологічних консорціумів, добрив, фітомеліорантів та рослин-стимуляторів у процесі біодеградації нафтошламів.

Тези доповідей та матеріали конференцій, з'їздів

1. Трохименко Г. Г., Храпко Т. М., Недорода В. М. Оцінка ефективності біодеструкції нафти і нафтопродуктів при використанні комплексного біопрепарату на основі штамів мікроорганізмів роду *Bacillus*. *Проблеми*

- екології та енергозбереження: матеріали XIV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 17-19 вересня). Миколаїв, 2021. С. 6-9.
2. Трохименко Г. Г., Храпко Т. М., Недорода В. М. Аналіз ефективності мікроорганізмів-нафтодеструкторів при очищенні нафтозабруднених ґрунтів. VIII-й Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнародною участю [Електронне мережне наукове видання]: Збірник наукових праць (м. Вінниця, 22–24 вересня). Вінниця, 2021. С. 160-161.
 3. Трохименко Г. Г., Недорода В. М., Почечуєв В. В. Використання рослинних тест-систем для визначення фітотоксичності забрудненого нафтопродуктами ґрунту. «Екологія. Довкілля. Енергозбереження»: матеріали II Міжнародної науково-технічної конференції (м. Полтава, 2-3 грудня). Полтава, 2021. С. 311-314.
 4. Г. Трохименко, В. Недорода. Аналіз ефективності мікроорганізмів роду *Bacillus* методом біотестування при очищенні нафтозабруднених ґрунтів. Сталий розвиток – стан та перспективи: матеріали III Міжнародного наукового симпозіуму (м. Львів, 26-29 січня). Львів, 2022. С. 57-58.
 5. Трохименко Г. Г., Недорода В. М., Храпко Т. М. Вибір рослинних тест-систем для визначення фітотоксичності забрудненого нафтопродуктами ґрунту. Подолання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022: матеріали I Міжнародної науково-практичної конференції (м. Полтава, 26-27 травня). Полтава, 2022. С. 607-610.
 6. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Ефективність використання мікроорганізмів *Bacillus* у комбінації з фульвокислотами для покращення процесів мікробіологічної деструкції нафтопродуктів. Інновації в суднобудуванні та океанотехніці: матеріали XIII Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 27-28 жовтня). Миколаїв, 2022. С. 27-31.

7. Трохименко Г. Г., Недорода В. М. Аналіз доцільності використання добрив на основі фульвокислот при біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів. Environment recovery and reconstruction: war context 2022: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (м. Полтава, 17-18 листопада). Полтава, 2022. С. 51-53.
8. Недорода В. М., Трохименко Г. Г. Технічні особливості використання добрив у технології біоремедіації. Інновації в суднобудуванні та океанотехніці: матеріали XIV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 20-21 вересня). Миколаїв, 2023. С. 260-262.
9. Недорода В. М., Трохименко Г. Г. Використання рослинних меліорантів для підвищення ефективності біоремедіації. Проблеми екології та енергозбереження: матеріали XV Міжнародної науково-технічної конференції (м. Миколаїв, 21-22 вересня). Миколаїв, 2023. С. 54-56.

Додаток Б

Акт впровадження (ТОВ НВП «КАРАТ-БІО»)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ТОВ НВП «КАРАТ-БІО»

Віра КОВАЛИК

«15» квітня 2023 р.



АКТ

Про впровадження результатів дисертаційної роботи
Недороди Владислава Миколайовича
на здобуття наукового ступеня доктора філософії (PhD)
за спеціальністю 183 – Технології захисту навколишнього середовища

Цей Акт складено про те, що ТОВ НВП «КАРАТ-БІО» під час оцінювання ефективності біопрепарату "Деструктор вуглеводнів нафти" ТУ У 20,1-43363771-004:2021, що створений на основі асоціації нафтоокислюючих штамів роду *Bacillus* - «Деструктор-НШ» задепонованих в інституті мікробіології і вірусології ім. Заболотного під номером ІМВ К-22, використано результати дисертаційного дослідження, зокрема отримано нові дані щодо взаємозв'язку концентрації дослідного біопрепарату та рівнем фітотоксичності ґрунту, а також комплексної взаємодії препарату та добрив на основі фульвокислот для створення технології біоремедіації з розробкою комплексного біопрепарату-деструктору нового покоління: «БіоФульво».

Ми, які нижче підписалися: від кафедри екології та природоохоронних технологій Національного університету кораблебудування імені адмірала Макарова завідувачка кафедрою екології та природоохоронних технологій, д.т.н., проф., Г. Г. Трохименко, аспірант кафедри екології та природоохоронних технологій В. М. Недорода, від ТОВ НВП «КАРАТ-БІО» головний технолог Т. М. Храпко підтверджуємо, що результати роботи Недороди В. М. передані підприємству з метою впровадження для проектування технологічної схеми біоремедіації полігону складання нафтовмісних шламів.

Від ТОВ НВП «КАРАТ-БІО»

Головний технолог

Тарас ХРАПКО

Від Національного університету кораблебудування імені адмірала Макарова

Завідувачка кафедри екології
та природоохоронних технологій
д-р техн. наук, проф.,

Ганна ТРОХИМЕНКО

Виконавець:

аспірант кафедри екології
та природоохоронних технологій

Владислав НЕДОРОДА

Додаток В

Акт впровадження у навчальний процес

Міністерство освіти і науки України
Національний університет кораблебудування імені адмірала Макарова



ЗАТВЕРДЖУЮ

ректор НУК ім. адм. Макарова,

Трушляков Є.І.

30 серпня 2023 року

АКТ

впровадження результатів дисертаційного дослідження
Недороди Владислава Миколайовича на тему
«Інноваційна технологія біоре mediaції нафтозабруднених ґрунтів із
застосуванням мікробіологічних консорціумів»
у навчальний процес кораблебудівного навчально-наукового інституту
НУК імені адмірала Макарова
від 30 серпня 2023 року

Комісія методичної ради кораблебудівного навчально-наукового інституту у складі: Літвака С.М. – замісника директора інституту, кандидата технічних наук, професора – голови комісії; Трохименко Г.Г. – завідувачки кафедри екології та природоохоронних технологій, доктора технічних наук, професора – члена комісії, розглянули наступні матеріали щодо впровадження результатів дисертаційної роботи Недороди Владислава Миколайовича у навчальний процес Національного університету кораблебудування імені адмірала Макарова:

1. Дисертаційну роботу на тему «Інноваційна технологія біоре mediaції нафтозабруднених ґрунтів із застосуванням мікробіологічних консорціумів».
2. Робочі програми курсу дисциплін: «Біологічні методи захисту довкілля», яка викладається на денному та заочному відділеннях програми підготовки бакалаврів зі спеціальності 183 – Технології захисту навколишнього середовища, «Сучасні методи екологічних досліджень», яка викладається на денному та заочному відділеннях програми підготовки магістрів зі спеціальності 101 – Екологія, «Впровадження новітніх технологій утилізації відходів», яка викладається для підготовки аспірантів PhD програми підготовки доктора філософії зі спеціальності 183 – Технології захисту навколишнього середовища.

3. Навчально-методичні комплекси для вивчення перелічених дисциплін.

За результатами проведеної роботи комісією встановлено:

1. Теоретичні, науково-методичні та практичні результати дисертаційного дослідження Недороди Владислава Миколайовича на тему: «Інноваційна технологія біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів із застосуванням мікробіологічних консорціумів» використано при підготовці навчально-методичних матеріалів, зокрема, робочих програм з курсів «Біологічні методи захисту довкілля», «Сучасні методи екологічних досліджень» та «Впровадження новітніх технологій утилізації відходів».
2. Методичні підходи до оцінки рівня антропогенного навантаження використані у практичних заняттях з курсу «Сучасні методи екологічних досліджень», дані використання мікроорганізмів та рослин для захисту навколишнього середовища від забруднень – у практичних роботах у курсі «Біологічні методи захисту довкілля». Результати дослідження методик поводження з відходами покладені в основу ряду лекційних та практичних занять з курсу «Впровадження новітніх технологій утилізації відходів».
3. Застосування у навчальному процесі результатів дисертаційної роботи Недороди Владислава Миколайовича дало змогу підвищити рівень знань студентів та аспірантів вказаних спеціальностей, поглибити теоретико-методологічні основи даних дисциплін, адаптувати їх до умов та вимог сьогодення, а також підвищити якість підготовки фахівців з екологічних спеціальностей.

Замісник директора кораблебудівного
навчально-наукового інституту,
кандидат технічних наук, професор



С. М. Літвак

Завідувачка кафедри екології
та природоохоронних технологій,
доктор технічних наук, професор



Г. Г. Трохименко

Начальник навчального відділу,
кандидат технічних наук, професор



А. В. Лабарткава