

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КОМИ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ КОМИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРАЛЬСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Щемелинина Татьяна Николаевна

БИОТЕХНОЛОГИИ РЕМЕДИАЦИИ И КОНВЕРСИИ УГЛЕВОДОРОДОВ

Специальность 1.5.6. Биотехнология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Сыктывкар – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ		10
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ		20
1.1. Воздействие нефти и нефтепродуктов на водную среду		20
1.1.1. Источники загрязнения воды		21
1.1.2. Влияние нефтяного загрязнения на биотические и абиотические параметры гидросферы		24
1.1.3. Очистка водоемов от нефти и нефтепродуктов		27
1.1.4. Микроорганизмы в очистке водных объектов от нефти и нефтепродуктов		30
1.2. Воздействие нефти и нефтепродуктов на почву		36
1.2.1. Экологические особенности почв Крайнего Севера		36
1.2.2. Изменение свойств почв под влиянием нефти		43
1.2.3. Влияние нефтяного загрязнения на биологическое разнообразие в почве		44
1.2.4. Влияние нефтяного загрязнения на изменение ферментативной активности почв		49
1.2.5. Рекультивационные мероприятия		57
1.2.5.1. Влияние биоремедиационных мероприятий на биотические и абиотические факторы восстанавливающихся почв		58
1.2.5.2. Изменение ферментативной активности нефтезагрязненных почв процессе восстановления		73
1.3. Отходы нефтяной промышленности		75
1.3.1. Классификация нефтесодержащих отходов		77
1.3.2. Последствия загрязнения почвы нефтесодержащими отходами		80
1.3.3. Методы переработки нефтяных отходов		81
1.3.3.1. Очистка щебеночного балласта на железных дорогах		81
1.3.3.2. Способы утилизации нефтешлама с утратой ресурсного потенциала		82
1.3.3.3. Способы переработки нефтешламов, основанные на извлечении материального и энергетического потенциала		85

отходов	
1.4. Биоконверсия нефтеотходов	89
1.5. Трансформации нефти и нефтепродуктов. Микроорганизмы целевого назначения	92
1.5.1. Психротолерантные микроорганизмы для биремедиации почвенных и водных экосистем в условиях севера	93
1.5.2. Применение биосурфактантов и микроорганизмов их продуцирующих, для очистки почвы и воды от углеводородного загрязнения	95
1.5.3. Иммобилизация микроорганизмов на носителях	110
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	117
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	117
2.1. Полевой эксперимент с долгосрочным мониторингом ферментативной активности фоновых, нефтезагрязненных и восстанавливаемых почв Крайнего Севера (на примере Усинского района)	117
2.1.1. Природно-географическая характеристика района и почв исследования	117
2.1.2. Условия проведения эксперимента	119
2.1.3. Характеристика биопрепаратов нефтеокисляющего действия, использованных в полевом эксперименте	120
2.2. Штаммы микроорганизмов	121
2.3. Питательные среды для культивирования микроорганизмов	122
2.4. Скрининг микроорганизмов–нефтедеструкторов	124
2.5. Идентификация штаммов микроорганизмов молекулярногенетическими методами	125
2.5.1. Штамм <i>Pseudomonas yamanorum</i> VKM B-3033D	125
2.5.2. Штамм <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D	125
2.6. Извлечение липидов из биомассы	127
2.7. Идентификация жирных кислот	127
2.8. Расчет характеристик прекурсора биодизеля	127

2.9. Исследования ферментативной активности	128
2.10. Микробиологические исследования	129
2.11. Количественный химический анализ	130
2.12. Определение ПАУ	131
2.13. Определение эмульгирующей активности	131
2.14. Токсикологическая оценка микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата	131
2.15. Определение фитотоксичности штаммов	132
2.16. Микроскопирование	133
2.17. Лабораторные эксперименты по проверке эффективности применения изучаемых штаммов для очистки от загрязнения нефтью и нефтепродуктами	133
2.17.1. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма <i>Pseudomonas yamanorum</i> ВКМ В-3033D	133
2.17.2. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D	134
2.18. Оценка биотехнологических свойств симбиотического консорциума	135
2.19. Биотехнологические свойства альго-бактериально-дрожжевого консорциума от соотношения культур микроорганизмов	135
2.20. Иммобилизация клеток микроорганизмов на различных носителях	136
2.21. Биологическая активность и нефтеокисляющая способность биогеосорбента в зависимости от условий и срока хранения	137
2.21.1. Дегидрогеназная активность биогеосорбента	137
2.21.2. Нефтеокисляющая способность биогеосорбента	137
2.21.3. Микробиологическая активность биогеосорбента	137
2.22. Лабораторные эксперименты по проверке эффективности биогеосорбента для очистки водных и почвенных объектов от нефти и нефтепродуктов	138
2.22.1. Оценка эффективности биогеосорбента при использовании на водных средах	138
2.22.2. Оценка сорбционных и деструктивных свойств биогеосорбента при использовании на почвенных объектах	139

2.22.2.1. Оценка использования биогеосорбента в качестве биоремедианта для очистки мелкодисперсного грунта	139
2.22.2.2. Изучение эффективности процесса биодеструкции нефтепродуктов в грунте железнодорожного полотна с применением биогеосорбента	139
2.23. Полевые эксперименты. Альго-бактериально-дрожжевой консорциум и биогеосорбент для трансформации и биоконверсии углеводов	140
2.23.1. Опытные-промышленные испытания технологии очистки нефтесодержащих сточных вод на очистных сооружениях АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкара с применением альго-бактериально-дрожжевого консорциума	140
2.23.2. Опытные-промышленные испытания технологии очистки нефтезагрязненной жидкости шламового амбара с применением биогеосорбента	141
2.23.3. Опытные-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов с применением биогеосорбента на территории Ямало-Ненецкого автономного округа в районе кранового узла «Новый Уренгой – Сургут» (ОПИ–1)	142
2.23.4. Опытные-промышленные испытания технологии очистки с применением биогеосорбента на территории Ханты-Мансийского автономного округа в районе трассы Лангепас-Покачи (ОПИ–2)	143
2.23.5. Опытные-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории насосной подстанции предприятия АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкар с применением биогеосорбента (ОПИ–3)	144
2.23.6. Опытные-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории Республики Коми, п. Ярега в районе демонтированного резервуарного парка с применением биогеосорбента (ОПИ–4)	145
2.23.7. Щебеночный балласт. Биодеструкция и биоконверсия нефтепродуктов	146
2.23.7.1. Очистка щебеночного балласта от нефтепродуктов	146
2.23.7.2. Биоконверсия отработанной суспензии в биодизель	147
2.24. Статистические методы обработки результатов	147
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	148
ГЛАВА 3. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ, КАК ИНДИКАТОР ПРОЦЕССОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ И ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА	148

	МИКРООРГАНИЗМОВ	ДЛЯ	ПОЛУЧЕНИЯ	
	ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ		БИОЛОГИЧЕСКИХ	
	ПРОДУКТОВ			
	3.1. Степень обогащенности почв ферментами. Шкалы			148
	3.1.1. Оценка ферментативной активности фоновых почв Крайнего Севера (на примере Усинского района) по шкалам Д. Г. Звягинцева и В. И. Титовой			148
	3.1.2. Локальная модель зависимости ферментативной активности криоморфных почв Усинского района Республики Коми различной степени загрязнения НП			149
	3.1.3. Динамика ферментативной активности на площадках внесения биопрепаратов и содержание остаточных нефтепродуктов в почве			150
	3.2. Исследование ферментативной активности нефтезагрязненных почв в качестве индикатора процессов потенциального источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов			155
ГЛАВА	4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ			160
	МИКРООРГАНИЗМОВ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ.			
	БИОХИМИЧЕСКИЕ И BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИЕ			
	СВОЙСТВА			
	4.1. Описание микроорганизмов консорциума			160
	4.1.1. Штамм <i>Pseudomonas yamanorum</i> VKM B-3033D			160
	4.1.1.1. Культурально-морфологическая характеристика штамма <i>Pseudomonas yamanorum</i>			161
	4.1.1.2. Физиолого-биохимическая характеристика штамма <i>Pseudomonas yamanorum</i>			161
	4.1.1.3. Генотипическая характеристика штамма <i>Pseudomonas yamanorum</i>			161
	4.1.1.4. Анализ жирных кислот клеточной стенки штамма <i>Pseudomonas yamanorum</i>			167
	4.1.1.5. Поверхностно-активные вещества и эмульгирующая активность штамма <i>Pseudomonas yamanorum</i> VKM B-3033D			169
	4.1.1.6. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма <i>Pseudomonas yamanorum</i> VKM B-3033D			171
	4.1.2. Штамм <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D			174
	4.1.2.1. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические характеристики штамма <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D			175
	4.1.2.2. Генотипическая характеристика штамма <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D			175

	4.1.2.3. Анализ жирных кислот штамма <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D	177
	4.1.2.4. Поверхностно-активные вещества и эмульгирующая активность <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D	178
	4.1.2.5. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D	179
	4.1.3. ШТАММ <i>Chlorella vulgaris</i> IPPAS C-2024	181
	4.1.3.1. Морфологическая характеристика штамма <i>Chlorella vulgaris</i> IPPAS C-2024	182
	4.2. Эффективность по критериям «время обработки/виды загрязнений»	183
	4.3. Токсикологическая оценка микроорганизмов <i>R. glutinis</i> и <i>P. yamanorum</i>	184
	4.3.1. Патогенность штаммов (вирулентность, токсичность, токсигенность, диссеминация) для млекопитающих	184
	4.3.2. Гигиеническая характеристика штаммов. Содержание токсичных и опасных веществ	185
	4.4. Фитотоксичность штаммов	186
ГЛАВА	5. АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНО-ДРОЖЖЕВОЙ КОНСОРЦИУМ В СВОБОДНОЙ ФОРМЕ	190
	5.1. Альго-бактериально-дрожжевого консорциум	191
	5.2. Анализ жирных кислот альго-бактериально-дрожжевого консорциума	191
	5.3. Эмульгирующая активность консорциума	192
	5.4. Биотехнологические свойства альго-бактериально-дрожжевого консорциума	193
	5.5. Способность деструкции нефтепродуктов консорциума в разных соотношениях микроорганизмов	195
ГЛАВА	6. АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНО-ДРОЖЖЕВОЙ КОНСОРЦИУМ В ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМЕ	200
	6.1. Иммуобилизация альго-бактериально-дрожжевого консорциума на разных носителях	200
	6.2. Физико-химические основы процесса восстановления нефтяных загрязнений с помощью глауконита – минеральной основы биогеосорбента	203
	6.3. Иммуобилизация клеток консорциума на минеральный носитель – глауконит	204
	6.4. Биологическая активность и нефтеокисляющая способность биогеосорбента в зависимости от условий и срока хранения	205

6.4.1. Дегидрогеназная активность и нефтеокисляющая способность биогеосорбента	205
6.4.2. Микробиологическая активность биогеосорбента	207
6.5. Лабораторные эксперименты по проверке эффективности биогеосорбента для очистки водных и почвенных объектов от нефти и нефтепродуктов	210
6.5.1. Оценка сорбционных и деструктивных свойств биогеосорбента при использовании на водных объектах	211
6.5.1.1. Оценка сорбционных свойств биогеосорбента	211
6.5.1.2. Оценка деструктивного потенциала биогеосорбента в водной среде	213
6.5.2. Оценка сорбционных и деструктивных свойств биогеосорбента при использовании на почвенных объектах	213
6.5.2.1. Оценка использования биогеосорбента в качестве биоремедианта для очистки мелкодисперсного грунта	213
6.5.2.2. Изучение эффективности биодеструкции нефтепродуктов в грунте железнодорожного полотна с применением биогеосорбента	215
ГЛАВА 7. ПОЛЕВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ. АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНО-ДРОЖЖЕВОЙ КОНСОРЦИУМ И БИОГЕОСОРБЕНТ ДЛЯ ТРАНСФОРМАЦИИ И БИОКОНВЕРСИИ УГЛЕВОДОРОДОВ	217
7.1. Опытные-промышленные испытания технологии очистки нефтесодержащих сточных вод на очистных сооружениях АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкара с применением альго-бактериально-дрожжевого консорциума	217
7.2. Опытные-промышленные испытания технологии очистки нефтезагрязненной жидкости шламового амбара с применением биогеосорбента	219
7.3. Опытные-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов с применением биогеосорбента на территории Ямало-Ненецкого автономного округа в районе кранового узла «Новый Уренгой – Сургут» (ОПИ–1)	224
7.4. Опытные-промышленные испытания технологии очистки с применением биогеосорбента на территории Ханты-Мансийского автономного округа в районе трассы Лангепас-Покачи (ОПИ–2)	227
7.5. Опытные-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории насосной подстанции предприятия АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкар с применением биогеосорбента (ОПИ–3)	233
7.6. Опытные-промышленные испытания технологии очистки	235

	почвы от нефтепродуктов на территории Республики Коми, п. Ярега в районе демонтированного резервуарного парка с применением биогеосорбента (ОПИ–4)	
	7.7. Щебеночный балласт. Биодеструкция и биоконверсия нефтепродуктов.	237
	7.7.1. Очистка щебеночного балласта от нефтепродуктов	237
	7.7.2. Биоконверсия отработанной суспензии в биодизель	239
ГЛАВА	8. ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОПРЕПАРАТА БИОТРИН И БИОГЕОСОРБЕНТА ГЕОЛЕКС	246
	8.1. Описание биопродуктов	246
	8.1.1. Описание биопрепарата «БИОТРИН»	246
	8.1.2. Описание биогеосорбента «ГЕОЛЕКС» [®]	246
	8.1.3. Безопасность. Сертификация	247
	8.1.4. Техническая документация	247
	8.1.5. Результаты интеллектуальной собственности	248
	8.1.6. Основные научно-технические параметры биогеосорбента «ГЕОЛЕКС» [®]	249
	8.1.7. Назначение биопрепарата «БИОТРИН» и биогеосорбента «ГЕОЛЕКС» [®]	249
	8.2. Технические условия на биогеосорбент «ГЕОЛЕКС» [®] для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв, грунтов и водных объектов	250
	8.3. Технологическая схема полупромышленного производства биогеосорбента «ГЕОЛЕКС» [®]	251
	8.4. Технология применения биогеосорбента «ГЕОЛЕКС» [®]	253
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	270
	ВЫВОДЫ	273
	РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ	274
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	275
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	279
	ПРИЛОЖЕНИЯ	394
	ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ	429

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Для Арктической зоны и Крайнего Севера характерны экстремальные природные условия. Суровость климата и безлесие создают особые гидротермические и физико-химические режимы в почвах, вызывают криогенные процессы пучения и вымерзания, создающие специфику тундрового почвообразования и тундрового ландшафта в целом (Атлас почв..., 2010). Период активного почвообразовательного процесса равен 2,5–3 месяцам. Особенностью тундровых почв является их малая мощность. Содержание перегноя составляет 1–8 %. Почвенный раствор беден минеральными соединениями (Арчегова, Забоева, 1974; Забоева, 1975). Почвы Крайнего Севера имеют ясную выраженность микробного профиля, прижатость активно протекающих микробиологических и биохимических процессов к самой поверхности почвы (Стенина, 1964). Поэтому общая годовая продукция бактериальной биомассы довольно низкая (Yoshitake et al., 2018). Такое структурное строение биогеоценотической системы обуславливает очень медленное ее возобновление и высокую чувствительность к малейшему техногенному воздействию (Василевская, 1997; Капелькина и др., 1997). Кроме того, высокая обводненность почв Севера определяют высокую контрастность накопления поллютантов в почвенном пространстве. Таким образом, биогеоценозы Севера, с одной стороны, обладают крайней уязвимостью к любого рода техногенным нарушениям, низким самовосстановительным потенциалом, слабой естественной микробиологической активностью, с другой стороны – именно на Севере сосредоточены основные месторождения углеводородного сырья, которые будут еще длительное время иметь важное значение в топливно-энергетическом комплексе и в экономике России. Ежегодная добыча нефти в России предполагает и ее ежегодные потери – от 1,5 % до 10 % (10–23 млн т. за год) и, следовательно, катастрофическое загрязнение окружающей среды (Петровский и др., 2018; Лаптева и др., 2019; Имполитов, 2020; Юшков, Подобедова, 2021; Little et al., 2021) и представляет серьезную опасность для биологического разнообразия водных (Коршунова, 2019; Воробьев

и др., 2020; Акимова и др. 2022; Carroll et al., 2018; King et al., 2021), почвенных экосистем (Акимова и др., 2022; Al-Hawash et al., 2018; Shaoping et al., 2021; Khatoon et al., 2021) и для здоровья человека (Yang et al., 2021; Kumar et al., 2021; Zhang et al., 2022). Это значит, что проблема очищения почв от углеводородных загрязнений и последующего восстановления природного равновесия экосистем севера остаются актуальными, и будут оставаться таковыми на протяжении еще десятков лет.

Нефтяной поллютант, в зависимости от его токсичности и концентрации изменяет микробиологическую активность почв, снижая биоразнообразие и увеличивая численность углеводородоокисляющих микроорганизмов. В ответ на присутствие в среде специфического субстрата или метаболита микроорганизмы вырабатывают соответствующие ферменты, что необходимо клетке для подготовки и усвоения труднодоступных источников питания, в том числе углеводов нефти (Tindall et al., 2008). Поэтому изменение ферментативной активности почвы может служить индикатором ее экологического состояния (Хазиев, 2019; Tao et al., 2020; Garousin et al., 2021; Cabral et al., 2022). Долгосрочный мониторинг ферментативной активности криогенных нефтезагрязненных почв позволяет выявить закономерности изменения ферментативной активности –индикатора направленности процессов восстановления в условиях Крайнего Севера.

Скорость самоочищения почв от нефти зависит от почвенно-климатических условий (Хазиев, 2012; Мелехина и др., 2015; Sun et al., 2015). В неблагоприятных условиях естественная деструкция углеводородов с помощью почвенной микробиоты может растянуться во времени, нанося урон окружающей среде (Маганов и др., 2006). Экономически и экологически оптимальными технологиями ремедиации нефтезагрязненных почвенных и водных объектов, утилизации нефтяных отходов на Крайнем Севере являются биотехнологии с применением психротолерантных микроорганизмов-нефтедеструкторов в свободной (Филонов, 2016; Коршунова, 2019; Bogatyrenko et al., 2022; Saravanan et

al., 2023) и иммобилизованной форме (Tarabukin et al., 2017; Liu et al., 2023). Принципиально новым подходом переработки нефтеотходов с извлечением материального и энергетического потенциала является получение биотоплива путем биоконверсии (Shchemelinina et al., 2022). Поэтому поиск психротолерантных нефтеокисляющих микроорганизмов и исследование свойств их консорциумов в свободной и иммобилизованной форме, а также создание технологий их применения для ускорения очистки окружающей среды от углеводов на Крайнем Севере, являются актуальными. В связи с этим приоритетное значение имеет изучение ферментативной активности криогенных нефтезагрязненных почв и выявление автохтонных микроорганизмов – основы биопрепаратов полифункционального действия, способных к трансформации и биоконверсии углеводов в целевые продукты.

Цель исследования – формирование теоретической и практической базы для создания биопродуктов на основе углеводородокисляющих микроорганизмов, технологий их производства и применения в ремедиации нефтезагрязненных объектов и биоконверсии нефтесодержащих отходов.

Задачи исследования

1. Исследовать ферментативную активность нефтезагрязненных и восстанавливающихся почв Крайнего Севера в качестве индикатора процессов восстановления и потенциального источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов.
2. Выделить из нефтезагрязненных криогенных почв с высокой ферментативной активностью углеводородокисляющие микроорганизмы, обладающие потенциалом для использования в экиобиотехнологии. Идентифицировать выделенные микроорганизмы. Определить их биохимические, фенотипические, хемотаксономические свойства.
3. Изучить эффективность очистки от нефти и нефтепродуктов водных и почвенных объектов с помощью селектированных микроорганизмов-нефтедеструкторов.

4. Сконструировать нетоксичный симбиотический альго-бактериально-дрожжевой консорциум, предназначенный для биоконверсии нефтепродуктов.
5. Установить возможность иммобилизации клеток альго-бактериально-дрожжевого консорциума на различных носителях.
6. Проверить эффективность использования консорциума в свободной и иммобилизованной форме для биотехнологий в производственных экспериментах.
7. Разработать и утвердить в соответствии с действующим законодательством нормативно-техническую документацию на производство и технологию применения биопрепарата и биогеосорбента.

Научная новизна и теоретическая значимость. Впервые в результате 20-летних исследований нефтезагрязненных криогенных почв выявлена динамика ферментативной активности и доказана возможность ее использования в качестве индикатора направленности процессов восстановления в условиях Крайнего Севера. Разработана локальная модель, характеризующая связь ферментативной активности криогенных почв с содержанием в них нефтепродуктов. Разработаны алгоритмы моделирования биологических продуктов для использования в экобиотехнологической сфере, основанные на взаимосвязи между ферментами (каталазой, дегидрогеназой, уреазой), содержанием нефтепродуктов и метаболическим потенциалом выделенных микроорганизмов почв старых нефтеразливов.

Сконструирован новый нефтеокисляющий консорциум, состоящий из штамма водорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024, а также выделенных из нефтезагрязненных почв и идентифицированных в ходе настоящего исследования штаммов бактерий *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D и дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D. Доказана эффективность использования консорциума как в свободной, так и в иммобилизованной форме для очистки почв, грунтов, щебеночного балласта, водной поверхности и производственных сточных вод от нефтяного загрязнения, обезвреживания нефтеотходов. Впервые показано, что

консорциум микроорганизмов способен к биоконверсии нефтесодержащих отходов во вторичный продукт – биодизель.

Новизна исследований подтверждена 9 патентами РФ на изобретение: на питательную среду Люка для культивирования микроводорослей *Chlorella vulgaris* (№ 2556126), на штаммы консорциума (№ 2615458, № 2658134, № 2703499), на способ культивирования микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024 в природных условиях с использованием воды из пруда (№ 2774314), на нефтеокисляющий биопрепарат, биосорбент на его основе и способ его приготовления (№ 2703500), на средство для биодеструкции нефтепродуктов в загрязненных почвах (№ 2707815), на способ очистки отходов щебневого балласта, применяемого на железной дороге (№ 2711162), на способ очистки почв от нефтяных загрязнений методом гидропосева биосмеси с применением микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024 (№ 2764305).

Результаты, полученные в процессе идентификации бактерий, дрожжей способствуют установлению видовой принадлежности других микроорганизмов за счет расширения баз данных по нуклеотидным последовательностям генов, кодирующих 16S рРНК, а также имеют большое значение для фундаментальных исследований в различных областях науки (экология, генетика и эволюция микроорганизмов и пр.).

Результаты исследованных биохимических процессов в почве и биогеосорбентах расширят познания в области почвенной энзимологии.

В целом, результаты работы создают теоретическую и практическую базу для управления микробиологическими сообществами и создания биокаталитических систем глубокой переработки промышленных отходов и получения продуктов с высокой добавленной стоимостью.

Материалы диссертации используются при чтении лекций по дисциплине «Основы биотехнологии» в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский

государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова» (филиал Сыктывкарский лесной институт) по направлению «Химическая технология».

Практическая значимость. Разработанные в процессе исследований биопродукты и технологии их получения и использования имеют прикладное значение для решения экологических и энергетических задач. Выделенные штаммы микроорганизмов-нефтедеструкторов в свободной (биопрепарат «БИОТРИН») и иммобилизованной (биогеосорбент «ГЕОЛЕКС[®]») форме предназначены для очистки нефтезагрязненных объектов окружающей среды, обезвреживания жидких нефтесодержащих отходов. Разработанная технология внедрена в производство на базе общества с ограниченной ответственностью «БИОЭКОБАЛАНС» (г. Сыктывкар). Технология применения биогеосорбента успешно апробирована в тестовом и промышленном масштабе для ликвидации последствий нефтяных разливов в Ханты-Мансийском автономном округе, Ямало-Ненецком автономном округе и Республике Коми.

Штаммы *Pseudomonas yamanorum*, *Rhodotorula glutinis* депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* депонирован в коллекции культур микроводорослей (IPPAS) (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН).

Методология и методы исследования. Предмет исследования – штаммы микроорганизмов *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, *Rhodotorula glutinis* ВКМ У-2998D, *Chlorella vulgaris* IPPAS С-2024 и их консорциум, глауконитовая порода с иммобилизованными клетками микроорганизмов. Основными объектами исследования явились загрязненные нефтью и нефтепродуктами (НП) почва, вода, щебеночный балласт. Теоретической базой работы явились исследования российских и зарубежных ученых.

Положения, выносимые на защиту

1. Ферментативная активность нефтезагрязненных криогенных почв и нефтяных отходов выступает в качестве индикатора процессов восстановления

почв и источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов.

2. Штаммы микроорганизмов (*Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D), выделенные из персистентно загрязненных субстратов, обладают высокой нефтеокисляющей способностью, нетоксичны. Сконструирован консорциум, состоящий из бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D и фотосинтезирующих организмов – микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS С-2024, усиливающих биотехнологические свойства.

3. Имобилизация клеток консорциума на носитель – глауконитовый минерал способствует сохранению жизнеспособности и высокой активности клеток микроорганизмов.

4. Нетоксичный симбиотический альго-бактериально-дрожжевой консорциум в свободной и иммобилизованной форме предназначен для биоремедиации нефтезагрязненных объектов и биоконверсии нефтяных отходов в биодизель.

5. Разработана технология производства и применения жидкой и сухой формы биопрепарата «БИОТРИН» и биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» для очистки нефтезагрязненных объектов промышленной рекультивации.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность результатов диссертации подтверждается доказательным объемом исследований, применением современных методов исследований, статистики. Результаты испытаний биопродуктов, полученных в ходе работы подтверждены актами внедренных работ в промышленной рекультивации. Налажено производство биопрепарата и биогеосорбента. Основные результаты исследований были представлены на Международной конференции «Экология и биология почв: проблемы диагностики и индикации» (г. Ростов-на Дону, 2006), 14 Всероссийской молодежной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 2007), IV Всероссийской научной конференции с

международным участием «Отражение био-гео-антропосферных взаимодействий в почвах и почвенном покрове» (Томск, 2010), X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем» (Киров, 2012), Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы изучения и охраны животного мира на Севере» (Сытывкар, 2013), Всероссийской конференции с международным участием «Биотехнология – от науки к практике» (Уфа, 2014), Всероссийской научно-практической конференции «Экология и природопользование в Югре» (Сургут, 2014), The 16 international multidisciplinary scientific geoconference SGEM 2016 «Nano, Bio and Green – technologies for sustainable future» (Albena, Bulgaria, 2016), III Международной конференции «Окружающая среда и устойчивое развитие регионов: Экологические вызовы XXI века». (Казань, 2017), 5th International Conference on Competitive Materials and Technology Processes (Miskolc-Lillafüred, Hungary, 2018), Международной научной экологической конференции «Отходы, причины их образования и перспективы использования» (Краснодар, 2019), III Республиканском форуме «Интеллектуальная собственность – будущее Республики Коми» (Сыктывкар, 2019), International Congress for Applied Mineralogy (ICAM2019) (Белгород, 2019), XVII Геологическом съезде Республики Коми «Геология и минеральные ресурсы Европейского Северо-Востока России» (Сыктывкар, 2019), I и II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии» (Киров, 2019, 2020), Международной конференции «Рассохинские чтения», (Ухта, 2021).

Личный вклад автора заключается в формулировании цели и задач исследования, решении поставленных задач, планировании и выполнении экспериментов, обобщении и анализе результатов, их сравнение с имеющимися мировыми аналогами, практическое внедрение результатов, формулирование положений диссертационной работы, подготовке и регистрации технических

условий биопродуктов. Результаты диссертационной работы получены автором в процессе двадцатилетних научных исследований, проведенных лично или совместно с коллегами ФИЦ Коми НЦ УрО РАН в качестве ответственного исполнителя. Сотрудники, принимавшие непосредственное участие в исследованиях, работающие в ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН к.б.н. М. Ю. Маркарова, к.б.н. Е. Н. Патова, к.б.н. И. В. Новаковская, Е. М. Анчугова, работающие в ИГ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН д.г.-м.н., профессор О. Б. Котова, к.г.-м.н. Д. А. Шушков.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность научным сотрудникам Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук – старшему научному сотруднику лаборатории биохимии и биотехнологии, к.б.н., М. Ю. Маркаровой за неоценимую поддержку, постоянное содействие и научно-методическую помощь, младшему научному сотруднику лаборатории биохимии и биотехнологии Е. М. Анчуговой за участие в проведении полевых испытаний и обработке полученных данных, научному сотруднику лаборатории биохимии и биотехнологии К. Г. Уфимцеву за методическую помощь; ведущему научному сотруднику лаборатории экологической физиологии растений, д.б.н., проф. Т. К. Головки за научную консультацию, заместителю директора по научной работе, к.х.н. Б. М. Кондратенку за научную консультацию, ведущему научному сотруднику отдела флоры и растительности Севера к.б.н., Е. Н. Патовой за научную консультацию и предоставление штаммов микроводорослей, научному сотруднику отдела флоры и растительности Севера к.б.н., И. В. Новаковской за выделение и культивирование штаммов микроводорослей, сотрудникам Института геологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, д. г.-м. н., проф. О. Б. Котовой за научную консультацию; к. г.-м. н., Д. А. Шушкову за предоставление материалов для исследований; коллективу экоаналитической лаборатории за бесценную помощь в проведении количественного химического анализа исследуемых образцов.

Связь работы с научными программами.

Работа выполнена на базе Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН в в рамках отраслевых НИР: «Технологии «живых систем» на основе высших растений, культивируемых растительных клеток, микроорганизмов и ферментов для получения биомедицинских препаратов, биотоплива и защиты окружающей среды» № 115021210021, «Разработка биокаталитических систем на основе ферментов, микроорганизмов и растительных клеток, их иммобилизованных форм и ассоциаций для переработки растительного сырья, получения биологически активных веществ, биотоплива, ремедиации загрязненных почв и очистки сточных вод» № АААА-А17-117121270025-1, «Научно-обоснованные биотехнологии для улучшения экологической обстановки и здоровья человека на Севере» № 1021051101411-4-1.6.23, а также при поддержке коммерчески ориентированных научно-технических проектов (Программа фонда содействия инновациям «СТАРТ»): «Разработка высокоэффективного биосорбента для очистки сточных вод от нефтепродуктов, технологии его производства и применения» (договор № 1329ГС1/22724 от 16.06.2016) и хозяйственных договоров с АО «Коми тепловая компания», ООО «ЛУКОЙЛ Коми», ООО «ЭкоАльянс», ООО «Днепр», ООО «БИОЭКОБАЛАНС», ООО «ШАРК» и др.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 44 научные работы, из которых 15 статей в рецензируемых научных журналах рекомендованных ВАК РФ, получено 9 патентов на изобретение.

Объем и структура диссертации. Объем диссертации составляет 437 стр. текста с 17 рисунками, 99 таблицами. Диссертационная работа состоит из введения, 8 глав, заключения, списка используемой литературы, включающего 826 наименований, в том числе 422 иностранных источников, 26 Приложений.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Воздействие нефти и нефтепродуктов на водную среду

Нефть – основной продукт внутреннего и внешнего рынка нашей страны. Строительный рынок, агрохозяйство, объекты энергетики, транспорт и другие отрасли промышленности – потребители сырья и продуктов, изготовленных из нефти. Энергетическое направление в использовании нефти до сих остается главным во всем мире (Петровский и др., 2018).

Анализ объемы добычи нефти с 1997 года в России показывает ее рост. Для поддержания стабильно высокого объема добычи постоянно ведется поиск новых месторождений, в том числе в труднодоступных регионах крайнего севера с суровым климатом, а также на дне Северного Ледовитого и Тихого океанов. Переработка и производство нефтепродуктов осуществляются более чем на 30 заводах. Стабильный ежегодный рост добычи нефти наблюдается с 2008 года (с 488 млн. тонн за 2008 год до 555,7 млн тонн за 2018 год (рисунок 1.1). Сокращение объема добычи нефти в России в 2017 году по сравнению с 2016 вызвано выполнением обязательств соглашения Organization of the Petroleum Exporting Countries по снижению добычи сырья. Эксплуатация новых скважин (8185) с 2017 года приводит к приросту на 14,5 % по сравнению с 2016 годом. Сырье подвергается все более глубокой переработке для получения его производных и увеличения конечной стоимости товара. (Добыча..., 2019).



Рисунок 1.1 – Добыча нефти в России в 2008-2018 годах (Добыча..., 2019)

Добыча нефти и газового конденсата выросла в России по итогам 2019 года на 0,8 %, до 560,2 млн. тонн год к году. Из материалов Центрального диспетчерского управления ТЭК (ЦДУ ТЭК) – добыча нефти и газового конденсата в России в январе-августе 2020 г. сократилась на 7,3 % по сравнению с показателем за 8 месяцев 2019 г. и составила 346,075 млн. т. (Алифирова, 2020), соответственно. Отрицательная динамика была с мая 2020 г. по апрель 2021 г. В IV квартале 2021 г. и в I квартале 2022 г. такая динамика сохранялась. Влияние санкций из-за конфликта России и Украины заметно с апреля 2022 г.: добыча нефти начала падать, снизились объемы внутренней переработки и экспорт по сравнению со значениями прошлого года. Да июнь 2022 года объемы добычи нефти составили 11,07 млн.барр./сут (Каукин, 2022).

Ежегодная добыча нефти в России предполагает и ее ежегодные потери – от 1,5 % до 10 % (до 23 млн. т. за год) и следовательно, катастрофическое загрязнение окружающей среды (Петровский и др., 2018). По данным Комитета по природным ресурсам и экологии Государственной Думы РФ ежегодно в России происходит более 60 крупных аварий и около 20 тыс. инцидентов, сопровождающихся значительными разливами нефти. Так, например, по данным российского отделения Greenpeace, в 2018 г. в России было зарегистрировано 8126 разливов нефти (Ликвидация..., 2022).

1.1.1. Источники загрязнения воды

Нефть и нефтепродукты оказывают негативное воздействие на водные экосистемы, выступая в как качестве токсикантов, так и в роли физических загрязнителей. Источники антропогенного нефтяного загрязнения водных объектов являются береговые стоки, водный транспорт, аварии в ходе нефтедобычи, кораблекрушения. В настоящее время насчитывается более 6 тыс. различных нефтепродуктов, в том числе бензин, мазут, керосин, смазочные масла и др. Некоторые химические соединения, добавляемые к нефтепродуктам, также могут быть весьма токсичными (тетраэтилсвинец, ядовитые присадки, сернистые соединения и пр.) (Lehusto et al., 2020).

В таблице 1.1 приведены основные источники загрязнения окружающей среды (Polinov et al., 2021).

Таблица 1.1 – Источники загрязнения окружающей среды

Деятельность	Виды загрязнения	Характеристика
Добыча и подготовка	Проливы	Состав грунта: 20 % – НП, 80 % – примеси
Транспортировка	Морским транспортом	Суспензия: Вода – 90 %, НП; Содержание воды – 80 %, грунта – 30 %, НП – 20 %.
	Сухопутным транспортом	Состав грунта: 20 % – НП, 80 % – примеси
	Трубопроводным транспортом	
	Разливы	
Переработка	Очистные мероприятия (зачистка резервуаров)	НП с механическими примесями – 5 %, эмульгированная вода – 10 %.
	Очистные сооружения	Состав шламонакопителя: Вверх – 80 % НП, 20 % воды, 5 % примеси; Средний слой – 90 % воды, 10 % примеси, 10 % – НП; Ил донный – НП – 1 %
Хранение	Разливы объекта хранения нефтепродуктов механических примесей	Состав грунта : 20 % - 80 % НП
	Очистные мероприятия (зачистка резервуаров)	Суспензия воды: НП – 5 %; эмульгированная вода – 10 %.

Поступление в тоннах нефтяных углеводородов показано в таблице 1.2 .

Ежегодно в Мировой океан сливается от 0,5 до 6 млн. тонн в год нефтяного сырья (таблица 1.2) (Владимиров, 2014; Патин, 2017).

Таблица 1.2 – Источники поступления нефтяных углеводородов в Мировой океан

Источник	млн. т/год
Морская транспортировка (кроме аварийных разливов)	1,83
Аварийные разливы	0,3
Речной сток, включая сточные воды городов	1,9
Сточные воды прибрежной зоны	0,8
Атмосферные осадки	0,6
Естественные нефтяные скважины	0,6
Добыча нефти в море	0,08
Всего:	6,11

Примером катастрофической ситуации, вследствие которой значительное количество нефти поступило в водотоки, является разгерметизация трубопровода в Усинском районе в конце ноября 2012 г. В результате нефтепродукты попали в долину руч. Возей-шор и распространились далее в более крупные реки – Колву и Усу. Этот разлив нефти признан крупнейшим экологическим ЧП в республике за последние годы (Лаптева и др., 2019).

Little et al. (2021) сообщают, что при разгерметизации цистерны с дизельным топливом на топливно-энергетической станции в г. Норильск (арктическая зона) произошел разлив дизеля в мае 2020 года. Эта авария – ЧС федерального масштаба создала угрозу выхода НП в экосистемы Северного Ледовитого океана. Из средств массовой информации разлито было около 21 тысячи тонн дизеля, из этого количества 15 тыс. тонн в р. Далдыкан, которая впадает в крупное озеро Пясино, а далее из озера река вытекает в Карское море (Нефтяное..., 2020).

Руководитель Программы по экоответственности бизнеса России WWF Книжникова утверждает, что если успешно локализовать пятно нефти и собрать

его в ближайшие часы после аварии не означает, что в воду не попали загрязняющие вещества. Напротив, токсичные компоненты дизельного топлива – полиарены наиболее быстро растворяющиеся в воде не могут быть собраны бонами и представляют наибольшую опасность (Нефтяное..., 2020). Агенство по рыболовству Енисейского тер. Управления Федерального агентства информировали, что НП после аварии слились в Карское море (Озеро..., 2020). 6 июля 2020 года Росприроднадзор оценил ущерб от аварии почти в 148 миллиардов рублей, вред, причиненный водным объектам, составил 147,046 млрд. руб., почве – еще 738,6 млн. руб (Гриш, Трифонова, 2020).

Режим чрезвычайной ситуации ввели в РК в октябре 2020 года из-за крупного разлива, произошедшего в НАО, около Харьтягинского месторождения предприятия «ЛУКОЙЛ». Отмечается, что следы топлива растянулись по течению почти на 40 километров (Имполитов, 2020).

В мае 2021 года в Республике Коми в результате аварии на нефтесборном коллекторе в почву и реку Колву утекло около 90 т нефтесодержащей жидкости (Юшков, Подобедова, 2021).

1.1.2. Влияние нефтяного загрязнения на биотические и абиотические параметры гидросферы

Нефть и нефтепродукты попадая в воду рек, море и т.д., практически сразу распадается на фракции. Пленка, одна из фракции, распределяется на поверхности и приводит к нарушению взаимодействия всех функций водной экосистемы (газо-, энерго-, тепло- и влагообмена) и атмосферы (Караев, Шихалиев, 2014; Патин, 2017). Легкие фракции нефти, которые способны растворяться и эмульгироваться распределяются по всей глубине водоема, тяжелые оседают на дно и загрязняют донные отложения (Campelo et al., 2021, Dhaka, Chattopadhyay, 2021). Такое распределения нефти и нефтепродуктов (растекание, дрейф, седиментация, затопления), в дальнейшем различные превращения (испарения, растворение, окисление, биодеградация и пр.) и другие изменения химических и физических

свойств зависят от количества вылитой нефти, состава, особенностей углеводородов, свойств водного объекта, а также времени года, климатических условий (Немировская и др., 2015а,б, 2016; Леонов и др., 2016, 2017; Патин, 2017). Очищение естественным путем от НП воды – длительно. Под воздействием химических и физических факторов происходят незначительные изменения без полной деградации и возвращения системы в изначальное состояние. Биологическое очищение водоемов происходит благодаря присутствующим в воде микроорганизмам, микроводорослям, микро- и мезофауне и пр. Во время загрязнения поллютантами особую роль и активность проявляет микробиота, способная окислять углеводороды. Углеводородоокисляющие микроорганизмы подвергают биоконверсии нефть и нефтепродукты до более простых соединений, включающихся в круговорот веществ в водоеме. Именно этот природный процесс взят в основу разработки биологической очистки с применением биопрепаратов (Коршунова, 2019).

При этом загрязняется не только вода, но и берега водных объектов (рек, морей, океанов). Нефть приводит к ухудшению состояния растительного и животного мира: отрицательное влияние на трофические связи, круговороты (Коршунова, 2019).

Наибольшую опасность для живых организмов представляют растворимые моноциклические ароматические углеводороды и устойчивые высокомолекулярные полиароматические углеводороды. Большинство видов водной фауны особенно уязвимы к действию нефти на ранних стадиях своего развития (икра, личинки, молодь) (Технический информационный..., 2011).

Последствия нефтяных катастроф на биологические объекты зависят от состава и свойств нефти и от объема ее поступления в водоем, природной характеристики района разлива (геоморфология побережья, климат, глубина, тип осадков и пр., текущей гидрометеорологической ситуации (температура, скорость течения, ветер, время года и др., а также видового состава, распределения, численности и других показателей состояния местной фауны и флоры

(Коршунова, 2019; Рекомендации..., 2020). Профильное распределение НП влияет на организмы всех слоев водоема, живущих как на поверхности, так и в глубине и в донных отложениях. Токсическое воздействие на живые организмы нефти нефтепродуктов представлено в таблице 1.3.

Таблица 1.3 – Токсическое воздействие нефти на водную фауну

Проявления	Фауна	Источник
Поражение непосредственное при контакте	Орнитофауна Водные млекопитающие	Дягилец и др., 2014; Технический информационный..., 2011; Григорьев и др., 2014; Haney et al., 2014; Fox et al., 2016.
Отравление при сильном нефтяном загрязнении, содержащем низкомолекулярные ПАУ	Ихтиофауна Планктон	Каниева, Федорова, 2014; Fodrie et al., 2014; Langangen et al., 2017; Carroll et al., 2018.
Снижающие жизнеспособность особо важных для организма процессов	Ихтиофауна Бентос	Каниева, Федорова, 2014; Умербаева, Попова, 2014; Клишин и др., 2015, 2016; Лаптева и др., 2019; Воробьев и др., 2020; Harvey et al., 2014; Fodrie et al., 2014; Murawski et al., 2014; Al-Saad et al., 2017.
Накопление и увеличение в организмах НП с появлением запаха и привкуса	Орнитофауна Ихтиофауна	Акимова, Филиппова, 2022; Langangen et al., 2017.

При загрязнении НП происходит изменение в организмах, популяциях и

впоследствии на биоценотическом уровне. Уровень:

- организменный (снижение физиологических функций, корректировка поведения, пониженный рост, снижение устойчивости к стрессу от внешних факторов, деформация в генетическом аппарате, трансформация исходного генофонда);
- популяционный (изменение численности, биомассы, соотношения смертности и рождаемости и пр.);
- биогеоценотический (изменение видового разнообразия, состава, экспрессия метаболизма биоценоза).

Наиболее подвержены поражению птицы и млекопитающие (Coppock, Dziwenka, 2014, King et al., 2021).

1.1.3. Очистка водоемов от нефти и нефтепродуктов

ПДК нефтепродуктов в воде – не более 0,1 мг/ дм³ (Руководство..., 2004; СанПиН... 2021, Council..., 1998; National... 2000).

Загрязненные водные объекты являются самыми сложнейшими в решении очистки экосистемами. Динамичность водоемов предполагает многообразие процессов трансформации углеводородов.

Организации, занимающиеся рекультивационными мероприятиями и очисткой водоемов, а также ликвидацией аварийных разливов применяют разные методы очистки (Привалова и др., 2015; Долгополова, Патрушева, 2016; Двадненко и др., 2017; Hoang et al., 2018; Abuhazel et al., 2021).

Механическая очистка от нефтепродуктов на предприятиях осуществляется стационарно методом отстаивания и фильтрации с последующим улавливанием нефтеловушками, бензо- и маслоуловителями, отстойниками. С помощью этого метода улавливают около 60 – 75 % нерастворимых примесей (Выросткова и др., 2019). В природных водоемах механические методы очистки от разлившейся нефти являются первичными. Именно от времени их применения зависит растекание, дрейф и увеличение площади нефтяного пятна. Чем быстрее будут

применены механические методы очистки, тем меньше будут последствия для окружающей среды (Коршунова, 2019). Сбор нефтепродуктов составляет около 60–70 %. Оставшиеся 30–40 % загрязнения в различном состоянии очищают другими методами очистки. Оборудование механической очистки – боны, скиммеры, нефтесборщики, накопительные баки и бассейны, насосы обеспечивают первичный сбор НП (Лобанова, Углова, 2016). При механической очистке важна скорость сбора нефти для нанесения минимального вреда окружающей среде (Hoang et al., 2018).

Термический метод, один из самых первых способов ликвидации разлива нефти и нефтепродуктов. Раннее, повсеместно, разливы нефти уничтожались горением. При этом толщина пленки должна была быть не менее 0,3 см, определенная скорость ветра (35 км/ч) и обязательное условие – безопасность с применением противопожарных мер (Hoang et al., 2018). Однако, сжигание приводит к образованию токсичных, канцерогенных продуктов сгорания – полиаренов и считается на сегодняшний день экологически небезопасным.

Метод химической очистки основывается на добавлении в воду различных химических реагентов, которые вступают в реакцию с углеводородами, осаждают нефть в виде нерастворимых осадков. Нерастворимых примесей удаляется до 95 %, растворимых до 25 %. Считается, что при таком методе эффективность очистки достигает 98 % (Выросткова и др., 2019). Однако, метод с применением химических реагентов экономически нецелесообразен для природных водоемов. Один из наиболее применяемых способов химической очистки стоков промышленных предприятий от нефтяных загрязнений – химическое озонирование.

Физико-химические методы используют коагуляцию, адсорбцию, электролиз, озонирование и экстракцию (Патент № 2602566). В последнее время широко испытываются методы кавитации. При физикохимическом методе из воды удаляются мелкодисперсные и растворимые примеси, разрушаются органические и плохо растворимые вещества (Выросткова и др., 2019).

К физико-химическим способам очистки относят применение различных сорбентов. Сорбенты по своей природе разнообразны: перлит, угольные, графит (Тангиева и др., 2014), на основе синтетических материалов (нетканка, отличающаяся по толщине) (Жмырко, Новикова, 2015), губчатый или гранулированный полиуретан. Органические и минеральные сорбенты, такие как зола, кокосовая стружка, торфяной, селикагели, глинистые. Отходы различных производств – особый вид сорбентов, решаемый сразу 2 задачи: с одной стороны очистка загрязненной воды, с другой - утилизация отходов. К ним относят кородревесные и целлюлозные отходы – опилки, гидролизный лигнин, обезвоженный осадок активного ила (Цыганова и др., 2014; Щемелинина и др., 2014; Пантюхина и др., 2018), растительные отходы немодифицированные и модифицированные – шелуха риса и гречихи, лузга пшеницы и подсолнуха, жом сахарной свеклы, коконов шелкопряда и др. (Шайхиев и др., 2015; Viju et al., 2022; Omar et al., 2023). Известны адсорбенты на основе абиетиновой кислоты, босвеллиевой кислоты и хитозана/магнетита для удаления отработанного масла с поверхности воды (Fekry et al., 2022). Также представлены сорбенты осаждающие нефть на дно (Альжанов, Горовых, 2015). Следует учитывать, что физико-химическими методами нефть может быть ликвидирована только плавающая в виде пленки, исключение составляют – растворенные НП. Сорбируя нефть с водной поверхности, отработанные сорбенты создают проблему вторичных отходов. На регенерацию отходов затрачиваются большие материальные и энергетические средства (Арабский и др., 2020).

Диспергенты, в качестве которых зачастую используют ПАВ, оказывают высокотоксическое воздействие на морские организмы, извлекая кислород из воды, создают мертвые зоны при штиле (Kleindienst et al., 2015; Hoang et al., 2018).

Механические и физико-химические методы обычно трудоемки, включают несколько этапов, экономически неэффективны и не обеспечивают полной очистки, так как растворенные в воде углеводороды не подвергаются очистке этими методами (Долгополова, Патрушева, 2016).

В отличие от химических ПАВ безвредным и эффективным в очистке от НП является применение БиоПАВ (биосурфактантов), продуцируемых микроорганизмами, иммобилизованными на сорбенты. Подробнее описано в разделе 5.2.

К преимуществам **биологической очистки** водных экосистем снижение срока очистки, безопасность, нетоксичность, экономичность, безвредность для окружающей среды продуктов метаболизма микроорганизмов (Серебренникова и др., 2015; Bhairavi et al., 2018; Sarubbo et al., 2023). Биологический метод очистки основан на применении природных углеводородокисляющих микроорганизмов, в том числе микроводорослей (Yong et al., 2021). Микроорганизмы-нефтедеструкторы принимают участие в круговороте, поддерживая трофические связи и являясь пищей для речных и морских организмов. После решения проблемы загрязнения воды нефтью и исчезновения «источника питания» для микроорганизмов, их клетки погибают, разлагаясь на ферменты, воду, углекислый газ и т.д., тем самым не создавая вторичного загрязнения. Преимущество биологической очистки в отличие от других методов – ее экономичность на 50-70 % расходов (Долгополова, Патрушева, 2016).

1.1.4. Микроорганизмы в очистке водных объектов от нефти и нефтепродуктов

Водоемы и сточные воды чистят с помощью микроорганизмов: в свободном и иммобилизованном состоянии. Это зависит, прежде всего, от самого водоема: проточный или стоячий, природный или промышленные стоки, от объема водного объекта, от объема нефтепродуктов, климатических и географических условий. Используя микробиологическую очистку для водоемов обеспечить ее высокую эффективность могут с технологии использования аэрирующих устройств, вносимых достаточное количество кислорода (Данилович, 2015; Белик, 2017 а,б; Щемелинина и др., 2020).

Углеводородокисляющие микроорганизмы обитают в небольших

количествах в любой водной экосистеме, питаясь жироподобными органическими веществами, в том числе углеводородами. В период загрязнения нефтью водоема, при повышенном содержании углеводородов возрастает активность УОМ. В морской воде выявлены представители углеводородокисляющих бактерий: рр. *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Archrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Coryneforms*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Frankia*, *Nocardiopsis*, *Brevibacterium*, *Mycobacterium*, *Alteromonas*, *Oceanospirillales*, *Cycloclasticus*. Также были обнаружены цианобактерии, грибы и водоросли (Хуе et al., 2015; Hazen et al., 2016). Santisi et al. (2015) определили бактерии *Alcanivorax* как деградирующие линейные углеводороды.

Полиарены, линейные алканы трансформируются в воде моря микроорганизмами *Cycloclasticus pugetii* и *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* (Mapelli et al., 2017).

Биосурфактант, вырабатываемый бактериями вида *B. methylotrophicus* UCP1616, использовался в качестве коллектора для удаления масла в прототипе системы DAF, включающей центрифужный насос для образования микропузырьков во флотационной камере. Результаты показали, что введение биосурфактанта увеличило скорость удаления нефти с 60 до 92% (Charpão et al., 2018).

Известен способ очистки от НП в воде моря с использованием консорциума водорослей и бактерий-нефтедеструкторов на синтетическом фильтре (Патент № 2412913).

Бактерии *P. fluorescens*, *P. guinea*, *Ochrobactrum anthropi*, *R. Fascians*, образующие консорциумы с водорослями проводят биоконверсию сильно загрязненной нефтью воды, прибрежной зоны в полярных и умеренных широтах. (Семенов и др., 2014; Пуговкин, 2017). Микроорганизмы *P. serasia* предназначены для уменьшения диаметра микропузырьков для увеличения поверхности контакта с каплями и улучшения процесса удаления масла, в результате чего концентрация масла составляет 15 мг / л, что находится в пределах норматива, определенного

бразильским экологическим законодательство (dos Santos et al., 2021).

В воде, находящейся в обороте промышленных предприятий находятся специфичные микроорганизмы, устойчивые к характерным для этого предприятия загрязнениям. Так при исследовании трех станций Амурского залива были обнаружены представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Planococcus*, а также группа коринеформных бактерий. Среди них преобладали бациллы, псевдомонады и микрококки, являющиеся известными фенолдегидрогеназами в природе и очистных сооружениях. Помимо псевдомонад здесь доминировали бактерии семейств *Vibrionaceae* (*Aeromonas*) и *Enterobacteriaceae* (Могилевская и др., 2019).

В водоемах используют методы стимуляции (внесения удобрений, аэрацию для насыщения кислородом), а при высокой концентрации нефтепродуктов в воде вносят моно или полипрепараты, а также симбиотические консорциумы.

В случае необходимости быстрого сбора нефти с поверхности воды с дальнейшей утилизацией сорбента эффективным является применение биосорбентов. Носитель является некой «базой-транспортом» для микроорганизмов. При повышенной токсичности, кислотности, солености и прочих стрессовых факторов для клеток УОМ носитель способен сохранить их клетки и защищает их от прямого воздействия токсичных веществ и неблагоприятных внешних факторов (температура, кислотность, концентрация электролитов), что позволяет иммобилизованным УОМ в течение длительного времени сохранять живучесть и активность (Martins et al., 2013; Žur et al., 2016; Shchemelinina et al., 2019). После окисления иммобилизованными на носитель микроорганизмами сорбированных нефтепродуктов, происходит рекуперация сорбента (Коршунова, 2019; Ковальчук, 2013; Артюх и др., 2014; Белик, Злобина, 2016; Морозов, 2017; Белик, 2017; Сулименко и др., 2017; Патент № 2624038; Патент № 2700445; Патент № 2529771; Патент № 2528863).

Биопрепараты и биогеосорбенты, актуальные сегодня представлены в таблице 1.4.

Таблица 1.4 – Биопрепараты нефтеокисляющего действия

Название препарата	Микроорганизмы в составе	Условия работы *	Расход*	Срок очистки в оптимальных условиях*	Цена за кг, \$
Деворойл ИНМИ РАН, г. Москва	(<i>Rhodococcus</i> spp. – 3 штамма, <i>Alcaligenes</i> sp., <i>Jarrowia</i> <i>lipolytica</i> и др.)	t°C +5 – +40, pH 4,5-9,5 загрязнение до 20 кг/м ² поверхности почвы; окисляют n-алканы C ₉ -C ₃₀ , ароматические соединения – фенол, крезол, пирокатехин	5-10 кг/га почвы, 1 кг/га поверхности водоема*	1-2 мес.*	35–45
Олеоворин, Биоприн ГосНИИ- Синтезбелок, г. Москва	<i>Acinetobacter oleovorum</i> , дрожжи р. <i>Candida</i>	t°C +3 - +45, pH 3,5-10. загрязнение до 20 г/кг почвы*	15 кг/га для почвы, 10 кг/га на поверхность воды*	1-2 мес*	35-45

Продолжение таблицы 1.4

Название препарата	Действующие начало	Условия работы *	Расход*	Срок очистки в оптимальных условиях*	Цена за кг, \$
ПУТИДОЙЛ Западная Сибирь	Бактерии <i>Pseudomonas putida</i> T °С +10 – +35	Содержание НП в почве – 10 %, не более, в воде не выше 20 г/л, толщина пленки нефти до 10 мм	3-15 кг/га в почву, 3-5 г/м ³ в грунт, 2-8 г/м ³ в загрязн. емкость, 2-5 кг/га на водную поверхность	1-2 мес, 2-3 недели на площадках с вывезенным грунтом 5-10 дней в емкости*	29
Биодеструктор – Валентис ГосНИИ- Синтезбелок, г. Москва	<i>Acinetobacter valentis</i>	t°С +10 - +50, рН 6-8 концентрация загрязнений не выше 20 кг/м ² *	10-15 кг/га почвы*	1-2 мес. *	35-45
Эконадин	<i>Pseudomonas fluorescens</i> на торфяном мхе	t°С +5 - +32 влажность торфа не более 10%*	30–50 кг/ 100м ² в почву, 100- 240кг/м ³ нефти*	3-4 мес. в почве, 2-4 нед. с поверх. вод*	5-6

Продолжение таблицы 1.4

Название препарата	Действующие начало	Условия работы *	Расход*	Срок очистки в оптимальных условиях*	Цена за кг, \$
Экойл, (с торфом), Экойл-М, Фежел-Био ГНЦ прикладной микробиологии, п. Оболенск	<i>Pseudomonas</i> sp. на модифицированном торфе, <i>Acinetobacter</i> sp, <i>Mycobacterium flavescens</i> . ассоциации микроорганизмов (сухая, жидкая форма)	t°C +5 – +32 влажность торфа не более 10 %*	30-50 кг/ 100м ² почвы, 100 кг/м ³ нефти*	3-4 мес. в почве, 1-2 мес. с поверхности воды*	3,5-6
Para-Bac Micro-Bac, США	Полибактериальный	Нет информации	Нет информации	Нет информации	35-45
UNI-REM Bio Tech Service, США	ферментный препарат	Нет информации	Нет информации	Нет информации	35-45

Примечание: * – условия, работы, расход препаратов и условия очистки даны с учетом загрязнений на почве и воде

1.2. Воздействие нефти и нефтепродуктов на почву

1.2.1. Экологические особенности почв Крайнего Севера

Крайний Север, это территория, на которой неблагоприятные, а в ряде случаев и экстремальные условия оказывают негативное воздействие не только на человека и условия его жизни, но и на процессы хозяйственной деятельности (Тихонова, 2017; Государственный..., 2018). При этом, в Арктической зоне России и на российском Севере сконцентрировано 60% имеющихся в стране запасов нефти и газа, 40% золота, 90% хрома и марганца, 47% платиновых металлов и т. д. Добыча полезных ископаемых непременно связана с техногенным загрязнением и разрушением (Тихонова, 2012; Зеленковский и др., 2016; Казанин и др., 2022). Основные задачи рационального природопользования – это сохранение минерально-сырьевых ресурсов, а также снижение до минимума экологических последствий деятельности человека. Отсюда следует, что одинаково важны инновационные методы в направлении нефтегазодобычи, так и усиление охраны окружающей среды и мероприятий в этом направлении.

Экстремальные почвенно-климатические условия, многолетняя вечная мерзлота – все это характерно для Арктической зоны (Атлас почв ..., 2010). Мерзлота образовалась на Европейском Севере в плейстоцене и в последующие эпохи, хотя и испытывала многочисленные периоды деградации и агградации, никогда не исчезала полностью (Баулин и др., 1981; Оберман, Шеслер, 2009). Мощность мерзлоты меняется в широких пределах – от 10–15 до 500–700 м. Максимальная мощность в Республике Коми отмечается, например, на правом берегу широтного отрезка р. Печора и в верхнем высотном поясе Урала. Преобладающие температуры от -0.5 до -2 °С (Геокриология СССР..., 1988). Такие температуры довольно высокие по сравнению, например, с температурами сибирской мерзлоты, которые могут быть немного ниже -10 °С (Геокриологическая ..., 1996). Минимальные температуры на поверхности мерзлотных почв достигают -27 °С. Суровость климата связана с двумя ключевыми факторами: солнечной радиацией и циркуляцией воздушных масс.

Европейская территория (таблица 1.5) России оказывается под мощным воздействием Атлантики и теплого течения Гольфстрим (Тихонова, 2012).

Таблица 1.5 – Характеристика зон Арктической территории

Пояс	Характеристика территории
<p>Абсолютно-дискомфортная территория Арктики</p>	<p>Явления полярной ночи и полярного дня Сильные ветра Средняя температура воздуха в январе $-18-20^{\circ}\text{C}$ Средняя температура в июле $+10-12^{\circ}\text{C}$ Невегетационный сезон – 280–300 дней Мерзлота сплошная, тундровый ландшафт</p>
<p>Экстремально-дискомфортная территория Арктики</p>	<p>Средняя температура воздуха в январе $-18-20^{\circ}\text{C}$ Средняя температура воздуха в июле $+10-12^{\circ}\text{C}$ Невегетационный – 260–280 дней Число безморозных дней в году – менее 70 Мерзлота островного и массивно островного распространения Ландшафт лесотундровый и тундровый Заболоченность на низменных местах до 30 %</p>
<p>Дискомфортная территория, приравненная к Крайнему Северу</p>	<p>Средняя температура воздуха в январе $-12-15^{\circ}\text{C}$, в июле $+15^{\circ}\text{C}$ Период с отрицательной температурой воздуха – 210–220 дней в году Неблагоприятный биофизиологический период – 250–260 дней Мерзлота островного характера с малой льдистостью Заболоченность 10–30 % Ландшафт – тенохвойная тайга</p>

Суровость климата и безлесие создают особые гидротермические и физико-химические режимы в почвах, вызывают криогенные процессы пучения и

вымерзания, создающие специфику тундрового почвообразования и тундрового ландшафта в целом (Атлас почв..., 2010). Экосистемы тундры и леса характеризуются низкой сопротивляемостью к сдвигам гомеостаза (Frossard et al., 2021). Это связано с условиями формирования тундровых почв и биоценологических связей. Зона тундры (растительность – кустарниково-моховая) в Республике Коми располагается в бассейне р. Воркута и в верховьях р. Уса. Переходная часть к таежной зоне – это лесотундра (южная и северная). Тундра-северная часть. Условия вечной мерзлоты способствуют формированию криогенных почвы. Криогенные почвы встречаются в тундровых и таежных северных почвах (Арчегова, Забоева, 1974). Почвы промерзают вглубь на 0,6-1,2 метра и находятся в холодном состоянии до 7,5 месяцев. Педогенез – 2,5-3 месяца. (Щемелинина, 2008). Толщина горизонта от поверхности почвы очень малая и составляет 1-8 % перегноя. Почвенный раствор беден минеральными соединениями (Арчегова, Забоева, 1974; Забоева, 1975).

Нефтяное загрязнение, вдобавок к криогенезу почв влияет на гранулометрический состав увеличивая плотность и создавая анаэробные условия

В почвах тундровой зоны, достаточно высокое содержание азота, основная часть которого сосредоточена в составе слабогумифицированного органического вещества (Маслов, Макаров, 2016). Преобладающим процессом биологического цикла азота в экосистемах тундры является аммонификация. Процессы нитрификации и денитрификации не рассматриваются в качестве важного звена круговорота элемента (Маслов, Макаров, 2016; Бузин и др., 2019; Nannipieri, Eldor, 2009). Согласно (Маслов, Макаров, 2016), в тундровых почвах минерализуется около 1 % азота, что меньше, чем в почвах бореального пояса (3–7 %). За счет низких температур, короткого вегетационного периода, низкой биологической активности, анаэробных условий, а также кислой почвенной среды, процесс гумификации и минерализации органики проходит очень медленно (Василевич и др., 2015). Следствием криогенных процессов, типичных для исследуемых почв, является надмерзлотная аккумуляция органического и

аммонийного азота в торфяно-глееземмах, а также накопление этих форм азота в многолетнемерзлом грунте торфяных олиготрофных почв (Шамрикова и др., 2020).

За счет болот Крайнего Севера накопление нефтяного поллютанта в почвенном горизонте высококонтрастно. Разделении нефти на фракции предполагает и ее распределение вглубь по почвенному рельефу. При этом нефть, перемещаясь, может загрязнить близлежащие чистые территории почвы и водные объекты и расширить площадь загрязнения (Рыбин и др., 1996; Солнцева, 1997; Zamotaev et al., 2015; Muir, Galarneau, 2021; Mindorff et al., 2023). В связи с этим увеличивается степень загрязненности сопряженной территории.

Растительные остатки влияют на профильное накопление полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в мерзлых торфяниках криолитозоны (Республика Коми). В составе преобладают как «тяжелые» (бенз[ghi]перилен, дибенз[a,h]антрацен и бенз[b]флуорантен), так и «легкие» (пирен и нафталин) ПАУ. Полициклические ароматические углеводороды в слоях вечной мерзлоты законсервированы. В слоях, которые оттаивают в теплый сезон происходит разложение и биотрансформация остатков растений, гумуса и иных органических соединений, что приводит к накоплению 5,6-ядерных структур ПАУ (Gabov et al., 2019).

Биота сосредоточена на поверхности почвы и не осваивается в глубь толщи за счет промерзания и его длительного периода в почве. За счет этого органогенный слой не мощный, связи между компонентами тесные и узкое жизненное пространство с ограниченным развитием биотических связей. По уровню продуктивности тундровый биогеоценоз относят к «очень малопродуктивным» (Паринкина, 1972; 1973), а биологический круговорот медленный с затяжным разложением органики и длительным периодом самоочистки почвы. Корни растительности располагаются на поверхности, не связаны с нижележащими минеральными слоями. Поэтому загрязненная биогеоценотическая система медленно возвращается к своему исходному или

близкому к нему состоянию, очень чувствительна к любым нарушениям (Василевская, 1997; Капелькина и др., 1997).

Растительность оказывает значительное влияние на свойства почв (температуру, влажность, промерзание в зимний период и т.п.) и ее живое население. Частью любого биоценоза являются почвенные водоросли (Гецен и др., 1994; Атлас почв..., 2010)., которые участвуют в формировании почвенного субстрата и круговороте биогенных элементов горно-тундровых сообществ. Доминирующий комплекс видов водорослей всех трех типов горно-тундровых сообществ представлен следующими таксонами, расположенными по алфавиту: *Elliptochloris bilobata*, *Leptolyngbya foveolarum*, *Leptosira terrestris*, *Pseudococcomyxa simplex*, *Sporotetras polydermatica*, *Stigonema minutum*, *S. ocellatum* (Кулюгина и др., 2017).

При исследовании микробиоты тундровых почв было установлено, что почвы Европейского Северо-Востока имеют общую черту – ясную выраженность микробного профиля, прижатость активно протекающих микробиологических и биохимических процессов к самой поверхности почвы (Стенина, 1964). Поэтому общая годовая продукция бактериальной биомассы довольно низка (Yoshitake et al., 2018).

Количество бактерий в почвах волнообразно (Nemergut et al., 2005). Численность бактерий то резко повышается, то также резко снижается. Связано с сезонами. Весной, при повышении температуры, таяние снега и льда и за счет этого пополнение почвенного раствора микроэлементами, наблюдается пик численности микроорганизмов. Влажность почвы – основная причина увеличения численности отдельных грумм микроорганизмов.

Актиномицеты в почвах Крайнего Севера немногочисленны. Резко доминируют немногие виды, главным образом рода *Criptomycoccus*, которые преобладают лишь в отдельных биотопах-скоплениях мхов, остатков растений (Стенина, 1964).

Основная масса бактерий тундровых почв представлена психротолерантными формами (Мишустин, 1975; Паринкина, 1989; Щемелинина, 2008). Аномальные температуры не оказывают воздействия на такие микроорганизмы, которые продолжают интенсивно размножаться в вегетацию, участвовать в превращении веществ. Они толерантны к широкому диапазону температур и на большинство из них низкие и сильно низкие температуры не оказывают летального действия (Паринкина, 1989).

Для целинных тундровых почв характерны представители р. *Bacillus* – *B. agglomeratus*, *B. asterosporus*; *Mycobacterium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и др. (Мишустин, 1984). В тундрово-глеевой и глеево-подзолистой почве общее число микроорганизмов в почве составляет $2,14 \cdot 10^5$ КОЕ/г; из них неспорообразующих – 94,9 % от общего числа; бациллы – 0,7 %; актиномицеты – 1,5 %; грибы – 2,9 (Мишустин, 1975).

В почвах Европейского Крайнего Севера наиболее широко распространенным микроорганизмом является *Clostridium pasteurianum* – анаэробный фиксатор азота, образующий в ходе жизнедеятельности различные низкомолекулярные органические кислоты (Звягинцев и др., 2005). Микромицеты связаны с увлажнением почв. При сильном и длительном увлажнении – подавление роста. Торфянисто-подзолисто-глеевая почва и поверхностно-глеевая характеризуются невысокой численностью микромицетов (Tinling, Taylor, 2012). Доминирующие позиции типичных видов для тундровых почв Крайнего Севера в структуре микромицетного комплекса занимают *Mucor hiemalis*, *M. racemosus*, *Mortierella isabellina*, *Penicillium frequentans*, *P. lanosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Sporormia* sp., *Pseudogymnoascus pannorum*, *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum* и *Trichoderma viride*, в бугристо-полигональных болотных экосистемах значимую роль играют *Acremonium strictum* и *Phoma* sp. (Хабибуллина, Кузнецова, 2009; Кирцидели, 2019). В многолетне мерзлых грунтах Арктики чаще всего встречаются виды микромицетов с широким адаптационным

потенциалом – виды родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Pseudogymnoascus* (Ozerskaya et al., 2008). В верхней части сезонно талых слоев (0–20 см) торфяников лесотундры наряду с аскомицетами в разложении торфа участвуют зигомицеты, представители которых являются пионерными видами – это виды родов *Mortierella*, *Mucor*, *Umbelopsis*. В надмерзлотных слоях (40–55 см) и в мерзлой части торфяной залежи (55–115 см) основными деструкторами торфа являются аскомицеты, причем доминируют виды рода *Penicillium* (57–61 %). Во всех рассмотренных слоях торфа комплекс наиболее обильных видов представлен видами: *Talaromyces funiculosus*, *Penicillium spinulosum*, *Umbelopsis vinacea* (Виноградова и др., 2019).

Таким образом, в почвах Крайнего Севера преобладает морозоустойчивая микробиота, численный состав которой зависит от времени года, а активность микроорганизмов от насыщенности почвенного раствора питательными элементами и режима увлажнения. Для криогенных почв характерна низкая нитрификационная активность, невысокая численность целлюлозолитиков, низкая скорость деструкции органических остатков природного и антропогенного происхождения.

Биогеоценозы Крайнего Севера, с одной стороны, обладают крайней уязвимостью к любого рода техногенным нарушениям, низким самовосстановительным потенциалом, слабой естественной микробиологической активностью, с другой стороны – именно на Севере сосредоточены основные месторождения углеводородного сырья, которые будут еще длительное время иметь важное значение в топливно-энергетическом комплексе и в экономике России.

Это значит, что проблема очищения почв от углеводородных загрязнений и последующего восстановления природного равновесия экосистем севера остаются актуальными, и будут оставаться такими на протяжении еще десятков лет.

1.2.2. Изменение свойств почв под влиянием нефти

Под воздействием нефтяных загрязнителей происходят сложнейшие изменения в почве. Нефтяной поллютант воздействует на огромный комплекс свойств почвы (морфологию, физические, химические, биологические), от которых зависит плодородие и экологические функции. Обычно выделяют 2 момента в воздействии нефти и нефтепродуктов на почвенный субстрат. Первый непродолжительный происходит сразу после попадания в почву высокотоксичных НП (Исакова, 2019). Далее период токсикоза падает и выступает второй момент, связанный с изменениями свойств нефтезагрязненных почв, определяющий длительное снижение биологической продуктивности.

Происходит изменение гранулометрического состава. При агрегировании почвенных частиц, увеличении глыбистых и снижении ценных в плодородии частиц уменьшается за счет изменения под воздействием нефти физических свойств почвы: пористости, влагоемкости, водопроницаемости, теплопроводности и пр. (Колесников и др., 2014а; Кутузова и др., 2014; Федотова, Мелкозеров, 2017; Oluremi et al., 2015; Akinwumi et al., 2014; Jesna, Hari, 2015; Klamerus-Iwan et al., 2015; Hajabbasi, 2016; Iqbal et al., 2016; Поеје, Aniago, 2016; Abbasi Maedeh et al., 2017). В следствии подавляется микробиологический и питательные режимы, что приводит к снижению ферментативной активности и ухудшению почвенного плодородия (Щемелинина, 2008; Колесников и др., 2014б; Матвеева, Липатов, 2015; Середина и др., 2017; Oluremi et al., 2015; Salimnezhad et al., 2021; Rathod et al., 2022).

Закупоривание пор нефтью приводит к ухудшению: испарения, всасывания и движения по почвенным капиллярам. В нижних слоях понижается влагоемкость, в верхних – скопление влаги (Замотаев и др., 2015; Просянных и др., 2012; Матвеева, Липатов, 2015; Середина и др., 2017).

Происходит рост органического вещества за счет привнесенного углерода нефти, который является основным компонентом нефти (68-87 %) (Шаркова, 2011). Это приведет к нарушению баланса в сторону увеличения углерода в

соотношении C:N (Цомбуева, 2017; Richardson et al., 2015). Следовательно, ведет, и к снижению скорости минерализации органических соединений, ухудшению азотного питания почвы и растений (Абдусаламова и др., 2017; Kalmykova et al., 2022). Запас органики, калий, фосфор в почве снижается, более подвижными становятся элементы – железо и углерод в составе органо-минеральных комплексов, уменьшается величина гидролитической кислотности почв и увеличивается степень насыщенности основаниями фосфора (Новоселова и др., 2014; Воеводина и др., 2015; Арзамазова и др., 2017; Цомбуева, 2017; Liao Ch. et al., 2015; Richardson et al., 2015; Kalmykova et al., 2022).

Осолонцование почв – результат нефтезагрязнения, сопровождающееся засолением хлоридами и сульфатами (Габбасова и др., 2013). Уменьшается количество поглощенных катионов. Кроме того, обволакивание нефтяной пленкой почвенных коллоидов приводит к утрате способности обмена катионами (Kumar et al., 2021). Изменения в почвенно-поглощающем комплексе вызывают сдвиг щелочно-кислотных условий, что вызывает подщелачивание исходно кислых и слабо-кислых почв (Воеводина и др., 2015) или подкисление нейтральных почв (Dassò et al., 2020). Подкисление происходит за счет увеличения микромицетов в почве, которые продуцируют органические кислоты.

Сопутствующими загрязнителями нефти и НП являются тяжелые металлы и комплексы, содержащие в том числе уран, что может привести к возрастанию радиоактивного фона (Газалиев и др., 2014; Мустафин, Трифионов, 2017; Ezeldin et al., 2015; Song et al., 2022).

1.2.3. Влияние нефтяного загрязнения на биологическое разнообразие в почве

Микробоценоз. Загрязнение НП и нефтью приводит к снижению или повышению общей численности микроорганизмов, изменяется структура, разнообразие. Все зависит от содержания поллютанта, от почвенного субстрата, от самого микробоценоза до загрязнения (Чугунова и др., 2014; Кириенко, Имранова, 2015; Liao et al., 2015a, 2015b; Melekhina et al., 2015; Silva-Castro et al., 2015;

Hajabbasi, 2016; Liu Q. et al., 2017; He et al., 2021; Shi et al., 2022).

Увеличивается численность и активность углеводородокисляющих микроорганизмов (Новоселова и др., 2014; Воеводина и др., 2015; Пархоменко, Стогниева, 2017; Liao et al., 2015a; Richardson et al., 2015; Shi, et al., 2022). Углеводородокисляющие микроорганизмы (УОМ) относятся к различным систематическим группам: бактерии, актиномицеты, дрожжи, микромицеты, цианобактерии. В почве преобладающая часть УОМ принадлежит микроорганизмам рода *Pseudomonas*.

При высоком содержании поллютанта изменяется видовое разнообразие и плотность микроорганизмов: снижается численность нитрификаторов (Urakawa et al., 2019; Shaoping et al., 2021), аммонификаторов при среднем и высоком загрязнении (Кузнецова и др., 2016), целлюлозоразрушающих микроорганизмов (Мазанко и др., 2014; Мязин, 2014; Кузнецова и др., 2017; Леднев, Скворцова, 2017; Liao et al., 2015a, 2015b;), увеличивается численность гетеротрофов (Григориади и др., 2012).

Ряд исследований (Quintella et al., 2019; Khatoon et al., 2021), отмечает, что микромицеты менее подвергаются воздействию нефти и НП, чем бактерии или дрожжи, но как и усталый представитель микробного сообщества грибам присуще те же процессы – преобладание нефтеокисляющих и снижение более чувствительных групп. Наиболее распространенными в почвах, содержащих нефть и нефтепродукты, являются представители рр. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria* и *Trichoderma* (Бакаева и др., 2014а, 2014б; Кириенко, Имранова, 2015; Донерьян и др., 2016; Agu et al., 2014; Benal et al., 2014; Kidibule et al., 2014; Dawoodi et al., 2015; Mbachu et al., 2016). Патогенные грибные сообщества также характерны при загрязнении НП (Бакаева и др., 2014б; Кириенко, Имранова, 2015; Evdokimova et al., 2013).

Отмечено, что более загрязненных почвах выявляются псевдомонады и флавобактерии, а в почвах с невысоким загрязнением – актиномицеты и бациллы (Леднев, Скворцова, 2017; Burghal et al., 2015; Xu et al., 2021).

По мнению Звягинцева, в пуле почвенных микроорганизмов присутствуют представители разных экологических стратегий, разделенные на r – и K-стратегов (рисунок 1.2).



Рисунок 1.2 – Экологические стратегии

На завершающей стадиях микробных сукцессий преимущество получают организмы K-стратегии.

Аналогична реакция на нефтяное загрязнение микроводорослей, которая выражается падением видового разнообразия и численности, а также сменой доминантов. Некоторые исследователи показывают непосредственное негативное влияние нефти на микроводоросли, зависящее от содержания НП (Дубовик и др., 2014, 2015; Неделин, 2015). Самыми устойчивыми к загрязнению являются цианобактерии (*Cyanophyta*) pp. *Nostoc*, *Anabaena*, *Phormidium*, *Plectonema* и зеленые водоросли (*Chlorophyta*) р. *Chlorococcum* (Дубовик и др., 2014, 2015; Неделин, 2015; Перевалова, Смирнова, 2016). Индикаторными по отношению к нефти можно считать желто-зеленые и диатомовые микроводоросли (*Xanthophyta*, *Bacillariophyta*). При их наличии в почве можно говорить об активных восстановительных процессах (Дубовик и др., 2014, 2015).

Беспозвоночные. По сравнению с микроорганизмами имеют более сложное строение. К ним относятся простейшие, черви, моллюски, насекомые, которые по-разному реагируют в ответ на загрязнение и способны быстро переместиться на

чистую территорию. У ни происходит изменение видового состава, численности, размера, количества (Мордкович и др., 2014; Гаджиева и др. 2020).

Снижение аэрации, доступа воздуха в изменившихся под воздействием нефтепродуктов почвенных агрегатов приводит к падению численности всех видов инфузорий. Невысокая нефтяная нагрузка способствует повышению численности инфузорий. При сильном загрязнении плотность популяции снижается (Залялетдинова, Полякова, 2015; Кулюкина, Карташев, 2017). Инфузории используют как индикаторные организмы для определения степени загрязнения (Карташов, 2014; Залялетдинова и др., 2016а,б).

Сообщества раковинных амёб (тестаций) подвергаются следующим изменениям под воздействием нефтяного поллютанта: исходный уровень особей – снижение – вымирание – восстановление – увеличение видового разнообразия особей – построение новой структуры сообщества. Чем выше загрязнение, тем дольше период восстановления у амёб (Полякова и др., 2015). Обнаружены потенциально патогенные свободноживущие амёбы в токсичных нефтезагрязнённых сточных водах (Andalib et al., 2022).

В исследовании Rubiyatno et al. (2022) показано, что дождевые черви пригодны для использования в качестве разлагателей пирена в загрязнённой почве.

Почвенная микробиота способна самостоятельно справиться с загрязнением нефти, но скорость очистки будет очень длительна и зависеть отразлившихся доз нефти, от состава почв, от климатических условий. Так, в условиях Крайнего Севера при загрязнении почвенных субстратов до 10 г/кг (песок), до 50 г/кг (торф) период самоочищения составляет 5-8 лет. При среднем уровне загрязнения поллютантом до 50 г/кг (песок), 200 г/кг (торф) промежуток восстановления почвенно-растительного покрова до 15 лет. И при высоком загрязнений песчаный и торфяных почв до 200 г/кг и 450 г/кг, соответственно восстановление происходит до 50 и более лет. Кроме того, в этот период продукты разложения нефти могут принести гораздо больший урон окружающей среде (Маганов и др.,

2006).

Процесс самоочищения нефтезагрязненной почвы проходит несколько этапов (Хазиев, 2012; Залилова и др., 2014; Мелехина и др., 2015; Журавлева и др., 2017; Liao et al., 2015a, 2015b; Sun et al., 2015) (таблица 1.6).

Таблица 1.6 – Этапы самоочищения нефтезагрязненных почв

Этапы	Процессы
I	Изменение микробного ценоза, увеличение микроорганизмов, окисляющих углеводороды. Окисление легких углеводородов. При загрязнении происходит снижение численности гетеротрофных бактерий, актиномицетов и мицелиальных грибов. Со временем, после окисления токсичных веществ происходит увеличение парафиноокисляющих бактерий.
II	Усиление ферментативной активности. Активизируются нерезистентные к загрязнению группы микроорганизмов, окисляются основные нефтепродукты и образовавшиеся соединения при разложении, начинается разложение гетероциклических соединений
III	Завершается процесс очищения загрязненной почвы от нефти, почвенная биота возвращается к начальному состоянию. Высокая численность УОМ. Постепенно образуется биоценоз, не характерный начальному.

Ремедиационные работы с использованием биотехнологий сокращают сроки восстановления окружающей среды на порядок и больше и степень отрицательного влияния НП так же снижается.

1.2.4. Влияние нефтяного загрязнения на изменение ферментативной активности почв

Согласно концепции Фредерика Клементсона общим законом функционирования экосистем является стремление к гомеостазу. Несмотря на гетерогенность почвы, в ней поддерживается стабильный гомеостаз – свойственное для данной почвы значение рН, содержание подвижных форм элементов, определенное содержание органического вещества. В тоже время, абсолютной стабилизации параметров в почве, как у любой биологической системы, не бывает. Правильнее говорить не о гомеостазе, а о гомеокинезе почвы, т.е. о динамическом равновесии. Во всех этих процессах гомеокинеза важная роль принадлежит биологической активности почв, в частности, работе микроорганизмов (Macdonald, King, 2018) и разнообразным биохимическим процессам благодаря богатому ферментному пулу почвы. Поддержание почвы в состоянии гомеостаза происходит благодаря биохимическим процессам превращения органических веществ, их трансформации в гумус и дальнейшем превращение гумусовых веществ. Как считает Д.Г. Звягинцев (1978), именно ферментативное оснащение системы микроорганизмы-почва помогает сохранять биохимический гомеостаз. Ферментативный пул этой системы представлен внеклеточными стабилизированными ферментами почвы, внеклеточными, несвязанными и внутриклеточными ферментами микроорганизмов. Ферментативная активность почв является относительно стабильным параметром среди других биологических показателей. Для более объективной оценки степени проявления биологической активности в конкретных почвах при определенных условиях, еще в 1978 году Д.Г. Звягинцевым были предложены конкретные оценочные шкалы (Глазунова, Поляков, 2016) – шкалы для оценки степени обогащенности почв микроорганизмами (люминисцентно-микроскопический метод, метод посева на питательные среды); шкалы для оценки степени обогащенности почв ферментами (расчет на весовые единицы почвы) (таблица 1.7); шкалы для оценки степени обогащенности почв ферментами (расчет на 1 см²

поверхности почвы). Было предложено сравнивать биологическую активность почв по 5-бальным шкалам. Шкалы должны быть приурочены к определенным стандартным методам.

Таблица 1.7 – Шкалы для оценки степени обогащенности почв ферментами (расчет на весовые единицы почвы) (по Д.Г. Звягинцеву)

Степень обогащенности почв	Каталаза, O ₂ , см ³ /г за 1 мин.	Дегидрогеназа, мг ТФФ/10 г за 24 часа	Инвертаза, мг глюкозы /1 г за 24 часа	Уреаза, мг NO ₃ /10 г за 24 часа	Фосфатаза, мг P ₂ O ₄ /10 г за 1 час
Очень бедная	<1	<1	<5	<3	<0.5
Бедная	1-3	1-3	5-15	3-10	0,5-1,5
Средняя обогащенность	3-10	3-10	15-50	10-30	1,5-5
Богатая	10-30	10-30	50-150	30-100	5-15
Очень богатая	>30	>30	>150	>100	>15

Позднее, Титовой В.И и Козловым А.В. также предложены шкалы обогащенности почвы – шкала оценки степени почвы микроорганизмами; шкала сравнительной оценки биохимической активности почвы (Титова, Козлов, 2012).

В таблице 1.8 приведена шкала сравнительной оценки биохимической активности почвы, основанной, в том числе и на деятельности микроорганизмов-органотрофов, которые продуцируют ферменты для процесса трансформации почвенного органического вещества. Сравнение полученных значений ферментативной активности почвы с данной шкалой и сопоставление их с численностью микрофлоры, перерабатывающей органическую часть почвы, позволяет комплексно оценить темпы и общую напряженность микробиологической деятельности почвенно-биотического комплекса.

Таблица 1.8 – Шкала сравнительной оценки биохимической активности почвы (по В.И. Титовой)

Показатель	Степень активности				
	I	II	III	IV	V
	очень слабая	слабая	средняя	высокая	очень высокая
Протеолитическая активность, мг глицина / 1 г / 24 ч.	<1	1,0-3,0	3,1-5,0	5,1-8,0	>8,0
Инвертазная активность, мг глюкозы / 1 г / 24 ч.	<5	5,0-15,0	15,1-50,0	50,1-150,0	>150,0
Целлюлолитическая активность, мкг глюкозы / 10г / 48 ч.	<10	10,0-20,0	20,1-50,0	50,1-100,0	>100,0
Полифенолоксидазная активность, мг пурпурогаллина / 100 г / 30 мин.	<10	10,0-20,0	20,1-30,0	30,1-40,0	>40,0
Пероксидазная активность, мг пурпурогаллина / 100 г / 30 мин.	<5	5,0-10,0	10,1-20,	20,1-30,0	>30,0

Согласно теории индуцированного синтеза ферментов Кошланда (Tindall et al., 2008) в ответ на присутствие в среде специфического субстрата или метаболита микроорганизмы вырабатывают соответствующие ферменты, что необходимо клетке для подготовки и усвоения труднодоступных источников питания, в том числе углеводов нефти.

Ферменты активно реагируют на техногенные изменения в почве, но в тоже время, по сравнению с другими биологическими системами являются более

устойчивыми параметрами. Отсюда принято использовать ферментативную активность в качестве индикатора экологического состояния почвы (Акименко и др., 2015; Хазиев, 2019). Изучение ферментативной активности широко используется в экологическом мониторинге при анализе содержания нефтепродуктов и других техногенных органических веществ (Поляк и др., 2018; Хазиев, 2018; Хазиев, 2019; Thavamani et al., 2012; Steinweg et al., 2013; Dourou et al., 2018; Tao et al., 2020; Garousin et al., 2021; Cabral et al., 2022).

Нефть и нефтепродукты влияя на изменение численности микроорганизмов, следовательно влияют и на ферментативные процессы (Баландина, 2013; Туманян и др., 2013; Liu et al., 2023). Изменение биотических факторов: микробиологическая активность, ферментативная активность, а также изменение агрохимических показателей точно квалифицируют изменения, происходящие в почве (Melekhina et al., 2015; Polyak et al., 2018; Хазиев, 2019). Влияние нефти и нефтепродуктов на ферменты почв многостороннее: прямое – ингибирование, разрушение или активация ферментов, и косвенное – изменение ферментативного пула почвы в результате ингибирования роста почвенной мезофауны и растений. Поллютант, загрязняя почву, влияет на важные биологические процессы (обмен фосфора, углеводов, азота) и приводит к изменению окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов (Колесников и др., 2014а, 2014б; Кутузова и др., 2014; Новоселова и др., 2014; Овсянникова и др., 2014; Филатов и др., 2014; Смирнова, Панина, 2015; Каримуллин и др., 2016; Ковалева, Пукальчик, 2016; Фомина, 2016; Абдусаламова и др., 2017; Поляк, Сухаревич, 2020; Dindar et al., 2015; Klamerus-Iwan et al., 2015; Wu et al., 2016; Wang et al., 2017). Почвенные ферменты кализируют специфические реакции, необходимые для разложения органических материалов в почве (Xiong et al., 2020), причем скорость ферментативных процессов часто превышает скорость процессов с участием химических катализаторов (Rao et al., 2014), а иммобилизованные ферменты намного дольше сохраняются в почве, являются значительным резервом ферментативной активности и могут чутко

реагировать на изменение свойств загрязненной почвы (Burns et al., 2013; Wang et al., 2023).

Окислительно-восстановительные ферменты принимают непосредственное участие в распаде нефти и НП (Рябцева и др., 2016; Demarche et al., 2012; Ossai et al., 2020). Важнейшими индикационными ферментами процессов окисления нефти являются каталаза и дегидрогеназа. По активности окислительно-восстановительных ферментов можно судить о степени загрязненности почв. Изменение активности каталазы и дегидрогеназы связано с избытком органического вещества - нефти, обогащенного серой, сероуглеродом, меркаптаном и некоторыми другими веществами.

Каталаза, под воздействием нефти изменяется по разному. Исследователи показывают ее снижение (Смирнова, Панина, 2015; Булуктаев, 2017; Жаббаров и др. 2023; Vorah et al., 2023; Chakravarty et al., 2022). От дозы нефтяного загрязнения, зависит и активность ферментов. Снижение каталазной активности происходит как от наличия в нефти сернистых соединений – ингибиторов каталазной активности (Булуктаев и др., 2015), так связывается с изменением численности углеводородоокисляющих микроорганизмов. Напротив, в дерново-подзолистой песчаной, серой лесной, аллювиальной дерновой, почвах при повышении концентрации НП отмечалась тенденция к росту каталазной активности (Каримуллин и др., 2015). Показано, что при низких дозах загрязнения нефтепродуктами супесчаной почвы (4,8 %) каталазная активность повышалась, при увеличении дозы (до 13 %) происходило ее снижение (Каримуллин и др., 2017). Анализируя активность каталазы, установили, что ее показатели при мазутном загрязнении достоверно не различаются друг с другом, однако, по сравнению с контролем значения выше и изменяется в пределах 2–2,1 мл 0,1 Н раствора $KMnO_4$ на 1 г почвы (Неделин, 2015).

Поляк и др. (Polyak et al., 2018) также сообщили, что дегидрогеназная активность является одним из основных агентов, участвующих в деградации НП почвы, так как участвует в переносе электронов и водорода через цепь

промежуточных переносчиков электронов к конечному акцептору электронов (кислород). Дегидрогеназная активность является внутриклеточным ферментом, общим для большинства организмов, и считается лучшим показателем окислительного потенциала почвы. Ароматические составляющие нефти оказывают ингибирующее действие на дегидрогеназную активность (Шашурин, 2012; Смирнова, Панина, 2015; Жаббаров и др., 2023; Wu et al., 2016; Chakravarty et al., 2022; Vorah et al., 2023). Процессы дегидрирования в почве наиболее показательны при нефтяном загрязнении, причем сильное влияние на дегидрогеназу оказывают продукты распада углеводородов, чем сама нефть (Polyak et al., 2018). На территории Самарской и Ульяновской областей на нефтезагрязненных почвах отмечено снижение активности каталазы. Активность дегидрогеназы дерново-подзолистой почвы Западной Сибири при нефтяном загрязнении снижалась (Щемелинина, 2020). Снижение активности каталазы и дегидрогеназы при высоком уровне загрязнения отмечено в торфяно-глеевых почвах Усинского района Республики Коми (Анчугова и др., 2016).

Большая роль в азотном обмене в почве принадлежит окислительно-восстановительным ферментам: нитратредуктазе, нитритредуктазе и гидроксилламинредуктазе, которые в анаэробных условиях участвуют в процессах восстановления окисленных форм азота до аммиака (Рыкова и др., 2012).

В круговороте биогенных элементов большую роль играют гидролитические ферменты. Гидролазы являются довольно обширной группой ферментов. Наиболее важны сведения о тех ферментах, которые расщепляют сложноэфирные, кислотнo-ангидридные, пептидные, глюкозидные и некоторые другие связи в органических соединениях. Они имеют большое значение в обогащении почвы питательными веществами, которые становятся подвижными и доступными для растений и микроорганизмов (Рыкова и др., 2012). Наиболее изученным гидролитическим ферментом является инвертаза, снижение активности которой, происходит из-за снижения в почве содержания дисахаридов, образующихся в результате работы целлюлозоразлагающих микроорганизмов (Rong et al., 2021).

Содержание НП в почве оказывало отрицательное влияние на инвертазу в черноземах Самарской области, а на слабозагрязненных и рекультивируемых участках стимулировалась (Шашурин, 2012). Аналогичные результаты были получены в бурых полупустынных почвах Калмыкии (Булуктаев и др., 2015). В криогенных почвах Якутии, ХМАО, характеризующихся пониженной устойчивостью, наиболее уязвимыми к нефтезагрязнению оказались гидролазы, в том числе и инвертаза (Иванова, Усачева, 2012; Шашурин, 2012).

Целлюлозолитическая активность снижалась после разлива в почву нефтепродуктов (Новоселова и др., 2014; Фомина, 2014; Заушинцен, 2015; Chakravarty et al., 2022; Vorah et al., 2023). Показано, что низкое содержание нефтепродуктов в почве ХМАО стимулировало процессы разложения целлюлазы (Иванова, Усачева, 2012).

По-разному отмечено и влияние нефти на гидролитические ферменты азотного обмена (Поляк и др., 2018; Каримуллин и др. 2021). С увеличением органического углерода в почве повышается окислительный потенциал в сторону преобладания восстановительных процессов, приводящий к изменению активности уреазы (Шашурин, 2012; Абдусаламова и др., 2017; Булуктаев, 2017; Каримуллин и др., 2017). Показано абсолютное подавление уреазной активности на загрязненных НП почвах (Забелина, Злышко, 2015; Сакаева и др. 2020; Жаббаров и др., 2023; Chakravarty et al., 2022; Vorah et al., 2023). При сильном нефтяном загрязнении идет нарушение азотного баланса в почвах Калмыкии и установлено повышение уреазной активности (Трифоновна и др., 2014; Булуктаев и др., 2015), приводящие. Рост аммонифицирующих микроорганизмов влияет на повышение уреазной активности. Ramadass et al. (2017a) сообщили, что дегидрогеназа, уреазы и инвертазы снижаются с увеличением содержания углеводородной смеси при < 1000 мг/кг и снижаются до нуля, когда концентрация углеводородов была >1000 мг/кг.

Активность протеолитических ферментов связана с накоплением свободных аминокислот и обуславливают динамику усвояемых форм азота (Рыкова и

др., 2012; Borah et al., 2023). Активность протеазы в почве Ханте-Мансийского округа снижалась пропорционально концентрации поллютанта, что свидетельствует об ингибировании процессов гидролитического расщепления белков (Иванова, Усачева, 2012). В других работах отмечается, что протеаза менее чувствительна к углеводородам нефти и повышается с увеличением ее дозы (Каримуллин и др., 2014).

В загрязненных нефтью почвах происходит обволакивание почвенных частиц нефтью, накопление тяжелых металлов, что нарушает процессы гидролиза фосфорорганических соединений, и как следствие, снижает фосфатазную активность (Киреева и др., 2001; Булуктаев, 2017; Жаббаров и др., 2023; Chakravarty et al., 2022; Borah et al., 2023). Углеводороды нефти оказывают разное действие на активность фосфатазы. Исследователи Башкортостана отметили рост активности фосфатазы при загрязнении почвы н-гексаном и циклогексаном, и, напротив бензин, ароматические фракции нефти приводили к ингибированию этого фермента. (Киреева и др., 2001).

Активность липазы в почве функционирует как гидролиз жиров и включает в себя гидролитический катализ сложных эфиров масел до жирных кислот и может непосредственно отражать метаболическую активность микроорганизмов в почве. Липазная активность в различных типах почв Башкирии (серая, темно-серая лесная, выщелоченный чернозем) и Республики Коми (торфяно-глеевая) в полевых условиях при воздействии низких концентраций загрязнителя и через год превосходит значения контрольного варианта опыта (Щемелинина, 2011; Кужамбердиева и др., 2018). Интенсивный липолиз коррелирует с увеличением численности углеводородокисляющих микроорганизмов и с уменьшением содержания остаточных компонентов в почве (Щемелинина, 2011). Повышение липазной активности в почве со временем коррелирует с увеличением разложенных органических веществ.

Таким образом, нефтяное загрязнение почв приводит к существенной разнонаправленной модификации интенсивности важнейших биохимических

реакций. Изменяется активность ферментов. Данные по активности некоторых окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов могут служить в качестве индикаторного показателя, как для оценочной биодиагностики почв, так и выделения из биологически активной почвы микроорганизмов целевого назначения.

1.2.5. Рекультивационные мероприятия

Все работы по рекультивации классифицируют на категории *ex situ* и *in situ* (Хачатрян, 2020) (таблица 1.9).

Таблица 1.9 – Категории рекультивационных работ *ex situ* и *in situ*

<i>ex situ</i>	Удаление загрязненной почвы, транспортировка на площадку обработки и складирования. Применение быстрых и эффективных методов очистки.
<i>in situ</i>	Применяются непосредственно на месте загрязнения, что обеспечивает существенную экономию средств и снижает риск воздействия поллютантов на человека и окружающую среду во время извлечения и транспортировки почв.

Согласно (ГОСТ..., 2017; О проведении..., 2019) рекультивацию нефтезагрязненных земель рекомендуется проводить последовательно в два этапа: технический и биологический.

Этап технической рекультивации проводят только на основании нормативных документов (проекта, технического задания). Цель технического этапа рекультивации – подготовка нарушенной территории до такого состояния, чтобы следующий этап обеспечил возможность восстановления плодородия (ГОСТ ..., 2017). Необходимо четко ограничить загрязненную площадь, убрать поверхностную нефть, используя сорбенты.

Биологическая рекультивация осуществляется после технической рекультивации и включает комплекс агротехнических и фитомелиоративных мероприятий, применение биопрепаратов и биосорбентов.

1.2.5.1. Влияние биоремедиационных мероприятий на биотические и абиотические факторы восстанавливаемых почв

Биоремедиация, которая использует пути разложения микроорганизмов или растений для нейтрализации загрязнителей, является широко распространенной технологией очистки почв, загрязненных нефтяными углеводородами, проводимая либо на месте (на загрязненном участке), либо вне места (на выкопанных образцах) (Das, Dash, 2014б; Xu et al., 2017; Environmental..., 2017; Koshlaf et al., 2017; Microbial..., 2018; Dos Santos et al., 2018; Rodriguez-Campos et al., 2019; Ławniczak et al., 2020; Funtikova et al., 2023; Fanaei et al., 2023; Muthukumar et al., 2023). Результат биоремедиации сильно зависит от состояния почвы и наличия штаммов микробных деструкторов, поэтому в случае биоаугментации жизнеспособность внесенных деструкторов имеет решающее значение (Das, Dash, 2014; Environmental..., 2017; Baoune et al., 2019).

После обработки биопрепаратом, содержащим углеводородокисляющий консорциум бактерий *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Flavobacterium*, отмечено преобладание групп бактерий над другими микроорганизмами, улучшение свойств грунта, понижение содержания CO₂ и гумуса, повышение содержания подвижной формы фосфора на 32 % и обменного калия на 93,3 % (Эсенжанова и др., 2019).

Rhodococcus – это род актиномицетов с высоким потенциалом для применения при обработке органических и неорганических соединений (Rathore et al., 2021; Nazari et al., 2022), таких как ПАУ (Subashchandrabose et al., 2018), фенольные соединения (Barik et al., 2021), фунгициды (Bai et al., 2017), фармацевтические препараты (Ivshina et al., 2019), фталаты (Zhao et al., 2018), красителей (Maniyam et al., 2020), тяжелых металлов (Goswami et al., 2017). Кроме того, *Rhodococcus* были иммобилизованы в различных материалах для осуществления биосорбции загрязняющих веществ из жидкой и газовой фаз (Maniyam et al., 2018; Nie et al., 2021).

При использовании бактериального продукта наблюдалось снижение

содержания НП, увеличение доступного фосфора, процесс минерализации был увеличен в 3,3 раза, содержание азота снизилось на 80 % (Polyak et al., 2018).

Исследование Salam (2016) установило биоразлагаемую способность двух штаммов *P. aeruginosa* RM1 и SK1 к отработанному моторному маслу и их склонность к разложению различных углеводородных фракций масла.

В результате проведенной биостимуляции загрязненной нефтепродуктами почвы в модельном эксперименте (штат Баучи, Нигерия) наблюдалось, что 100% и 83,36% удаление нефти и газа может быть достигнуто при уровне загрязнения 5% и 10% соответственно после десяти недель исследования (Abdulyekeen et al., 2019).

Бактерии *Pseudomonas* sp. A3, *Bacillus amyloliquefaciens* A9, и *Pseudomonas aeruginosa* AK7 эффективно разлагали алифатические углеводороды в почве (Нью-Дели) (Khandelwal et al., 2022).

Выведение тяжелых минеральных масел происходило на 28 % после 105 дней инкубации в почве с уровнями воды 50 % и 80 % от начального в микрокосмах (Lee S.H et al., 2018). Аналогичная очистка происходила в биостимулированном образце применением штаммов бактерий *R. quingshengii* KAG C и *R. erythropolis* PR4 и достигла 22 % за 40 дней (Bodor et al., 2020).

Мелехиной с соавторами (2016) показано, что применение биопрепаратов способствует повышению биологической активности почвы Крайнего Севера (восстановление фитоценоза, микобиоты и микрофауны, ферментативной активности), сопровождающейся интенсивной деструкцией НП (н-алканы, ПАУ).

Исследование Muthukumar et al. (2023) показало, что выбранные бактериальные консорциумы (*Pseudomonas aeruginosa* PP3 и *Pseudomonas aeruginosa* PP4) эффективно разлагали углеводороды и действовали как потенциальный биоремедиатор в почве, загрязненной углеводородами, за короткий период.

Разработанный новый биопрепарат для очистки почв от нефтяного

загрязнения в условиях засушливого климата Республики Казахстан в состав которого входят штаммы *R. qingshengii* F2-1, *R. qingshengii* F2-2 и *P. allopudida* BS3701 показал эффективность разложения сырой нефти к концу эксперимента – 70% (Funtikova et al., 2023).

Добавление штамма *Pseudomonas* sp. В значительно стимулировало рост бактериальных родов, таких как *Alcanivorax*, *Luteimonas*, *Parvibaculum*, *Stenotrophomonas* и *Pseudomonas* (Ling et al., 2023).

Ławniczak et al. (2020) привели обзор наиболее часто используемых средств повышения эффективности биodeградации с помощью различных биологических методов (таблица 1.10).

Таблица 1.10 – Биологические методы рекультивации

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Автохтонная биоаугментация	Алканы (начальная концентрация не указана)	Микрокосмы бурового шлама	35–66 %	12 недель	Вносили предварительно выделенные из бурового шлама и обогащенные методом накопительных культур консорциумы. Консорциумы продемонстрировали высокий потенциал биоразложения по отношению к нескольким углеводородным субстратам и способность производить биосурфактанты.	Guerra et al., 2018
Автохтонная биоаугментация	Фенантрен (10 мг/л)	Испытания с отбором проб откачиваемой эмульсии в бутылки	> 90 %	6 дней	Автохтонная биоаугментация позволила повысить эффективность биodeградации. Вновь введенный автохтонный изолят не принимал непосредственного участия в процессе биodeградации, и улучшение было приписано измененному разнообразию деструкторов ПАУ.	Li et al., 2018

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Автохтонная биоаугментация	Сырая нефть (10–50 г/кг)	Компостирование	60–91 %	12 недель	Повторное введение в популяцию двух автохтонных изолятов позволило успешно провести биоаугментацию и улучшить процесс биodeградации.	Koolivand et al., 2019
Биоаугментация	Сырая нефть (12 г/кг НП)	Почвенные микрокосмы	30–38 %	182 дня	Биоаугментация повысила эффективность биоразложения. Через 91 день наблюдалось значительное снижение дыхания почвы при изменении состава бактериального сообщества.	Pacwa-Płociniczka et al. 2019
Биоаугментация	Дизельное топливо и смесь ДТ/Биодизель (1% об / вес)	Почвенные микрокосмы	88–97 %	64,5 недели	Биоаугментация улучшила кинетику биodeградации; однако значительного эффекта в долгосрочной перспективе не наблюдалось. Кроме того, соотношение алифатических и ароматических фракций оставалось неизменным независимо от используемой обработки.	Woźniak-Karczewska et al., 2019

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Биоаугментация + биodeградация с участием ПАВ/биоПАВ	Пирен (10 мг/кг)	Почвенные микроскомы	60 %	10 дней	Биоаугментация прошла успешно. Наблюдали высокую эффективность биodeградации в случае образцов почвы без добавок и с добавками ПАВ (Brij-35). Добавление рамнолипидов ингибировало процесс биоразложения из-за их использования в качестве предпочтительного источника углерода.	Wolf, Gan, 2018
Биоаугментация + биостимуляция	ПАУ (1,5 г/кг)	Почвенные мезокомы	99 %	56 дней	Биостимуляция усилила биodeградацию, тогда как биоаугментация не внесла существенного вклада в этот процесс. Наблюдалось обогащение сообщества деструкторами ПАУ.	Haleyur et al., 2019

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Биоаугментация + биостимуляция	Сырая нефть (20 г/кг НП)	Почвенный микрокосмос	36–51 %	30 дней	Наивысшая эффективность биodeградации была достигнута, когда биоаугментация проводилась с использованием консорциума иммобилизованных бактерий, при этом высушенная солома <i>Eichhornia crassipes</i> действовала как носитель, так и дополнительный источник С и N.	Tao et al., 2019
Биоаугментация + биостимуляция	Сырая нефть (19,8 г/кг НП)	Почвенный микрокосмос	28 % (биостимуляция) и 14 % (биоаугментация)	12 недель	Биостимуляция позволила добиться большей эффективности по сравнению с биоаугментацией. Применение биоаугментации привело к заметному снижению биоразнообразия почвенного сообщества.	Wu et al., 2019

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Биоаугментация + биостимуляция + биodeградация с помощью сурфактанта	Углеводороды дизельного топлива (3 г/кг) + ПАУ (400 мкг/кг)	Выветренная смесь нефтесодержащих грунтов и почвы	39% для углеводородов дизельного топлива и 32 % для ПАУ	160 дней	Комбинированная биоаугментация, биостимуляция и добавление сурфактанта (Твин 80) улучшили эффективность биodeградации. В случае биостимуляции нитрат аммония способствовал очистке, тогда как использование мочевины снижала эффективность биodeградации.	Oualha et al., 2019
Биостимуляция + биodeградация с помощью сурфактанта	Сырая нефть (исходное содержание нефтепродуктов 20 г/кг и 50 г/кг)	Полевые исследования в почве	49–62 %	486 дней	Биостимуляция повысила эффективность биodeградации. Внесение ПАВ (Bioversal) улучшала процесс биоразложения в случаях более высокой концентрации сырой нефти, тогда как в случаях более низких концентраций она не оказывала значительного влияния на процесс.	Ortega et al., 2018

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Биодеградация с участием биосурфактанта	Фенантрен (0,1–1,0 мг/л)	Сорбционные реакторы с почвой	> 90 %	До 50 дней	Добавление биосурфактанта (рамнолипидов) влияло на кинетику сорбции фенантрена; однако он не влиял на кинетику его биоразложения. Существенного влияния биосурфактанта на основные деструкторы фенантрена не наблюдалось.	Crampon et al., 2017
Биодеградация с участием биосурфактанта	Гексадекан 2% об. /об	Жидкофазная ферментация	20–100 %	180 часов	Биосурфактант (рамнолипиды) увеличивал доступность гексадекана в случае <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (продуцента рамнолипидов) и снижал доступность в случае <i>P. putida</i> (неспособного продуцировать рамнолипиды). Снижение произошло за счет блокирующего действия рамнолипидов. Также наблюдали разложение рамнолипидов.	Liu Y. et al., 2017

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Биодеградация с участием биосурфактанта	Гексадекан 2% об. / Об	Жидкофазная ферментация	20–100 %	180 часов	Биосурфактант (рамнолипиды) увеличивал доступность гексадекана в случае <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (продуцента рамнолипидов) и снижал доступность в случае <i>P. putida</i> (неспособного продуцировать рамнолипиды). Снижение произошло за счет блокирующего действия рамнолипидов. Также наблюдали разложение рамнолипидов.	Liu Y. et al., 2017
Биодеградация с участием биосурфактанта	Сырая нефть (1% об/об)	Жидкофазная ферментация	> 85 %	14 дней	Выделенные из пляжных отложений микроорганизмы продемонстрировали способность эффективно разлагать углеводороды и производить биосурфактанты. Биосурфактанты увеличивали эмульгирование сырой нефти и облегчали процесс биоразложения.	Lee D.W. et al., 2018

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Биодеградация с участием биосурфактанта	Фенантрен (0,2–1,0 мг / л)	Жидкофазная ферментация	60–100 %	14 дней	Биосурфактант (рамнолипиды) вносили с целью повышения эффективности биоразложения. При концентрации рамнолипидов до 100 мг/л наблюдалось усиление биодеградации фенантрена. При концентрациях рамнолипидов выше 200 мг/л эффективность биодеградации снижалась из-за затрудненной биосорбции фенантрена.	Ma Z. et al., 2018
Биодеградация с участием биосурфактанта	ПАУ: фенантрен, флуорантен и пирен (6 мг/кг)	Почвенный микрокосм	72 % для фенантрена, 64 % для флуорантена и 58 % для	до 35 дней	Добавление биосурфактанта (рамнолипидов) первоначально увеличивало биоразложение исследуемых ПАУ (на 7-й день); однако на последних стадиях (до 35 дней) не наблюдалось никакого эффекта или даже более низкая эффективность.	Lu et al., 2019

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Биосурфактант / биodeградация с участием ПАВ/биоПАВ	Флуорен (280 или 320 мг/л)	Жидкофазная ферментация	75–97 %	24 ч	Добавление биоПАВ (рамнолипидов) позволило достичь более высокой эффективности биоразложения по сравнению с синтетическими ПАВ (Твин-80, Твин-60, Твин-40, Твин-20 и Тритон X-100).	Reddy et al., 2018
Биосурфактант / биodeградация с участием ПАВ	Дизельное топливо (1% об/об)	Жидкофазная ферментация	20–99 %	7 дней	Добавка ПАВ (Твин-80) усиливает биоразложение углеводов дизельного топлива. Добавление биоПАВ (рамнолипидов) ингибировало процесс биodeградации из-за их использования в качестве предпочтительного субстрата.	Staninska-Pięta et al., 2019

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Естественное рассеивание + автохтонная биоаугментация	Дизельное топливо (1% об / об)	Эксперимент в ампулах	20–40 %	7 дней	Эффективность процессов биodeградации при автохтонной биоаугментации зависела от предыдущего воздействия загрязнения на почвы. В большинстве тест систем автохтонная биоаугментация привела к значительному росту доли <i>Proteobacteria</i> .	Czarny et al., 2019
Естественное рассеивание + биоаугментация + биостимуляция	Моторное масло (39–41 г/кг нефти продуктов)	Почвенный микрокосм	31–75 %	210 дней	Комбинирование биоаугментации и биостимуляции привело к ингибированию процессов биodeградации по сравнению с естественным рассеиванием.	Ramadass et al., 2018

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Естественное рассеивание + биоаугментация + биостимуляция	Нефтеотходы (144 г/кг нефтепродуктов)	Микрокосмы флаконов	57–75 %	120 дней	Комбинированный подход к биоаугментации и биостимуляции позволил достичь максимальной эффективности биodeградации. Биостимуляция была основной движущей силой улучшения.	Roy et al., 2018
Естественное рассеивание + биоаугментация + биостимуляция	Сырая нефть (20 г/кг)	Биореакторы с почвой	51–90 %	60 дней	Комбинация биоаугментации и биостимуляции позволила достичь максимальной скорости биodeградации. Эффективность биостимуляции была выше (82% удаления нефтепродуктов) по сравнению с биоаугментацией (63%).	Safdari et al., 2018

Продолжение таблицы 1.10

Стратегия биоремедиации	Загрязняющие вещества	Тест-система	Эффективность удаления	Продолжительность процесса	Выводы / Комментарии	Ссылка
Естественное рассеивание + биоаугментация + биостимуляция	Сырая нефть (3% мас./Об.)	Почвенный микрокосм	94 %	45 дней	Комбинация биоаугментации и биостимуляции позволили добиться максимально быстрого и эффективного процесса биodeградации.	Varjani, Urasani, 2019
Биodeградация с участием ПАВ	ПАУ (574 мг/кг)	Почвенный микрокосм	72–77 %	84 дня	Усиленное биоразложение наблюдалось при концентрациях ПАВ ниже ККМ (Triton X-100), тогда как снижение эффективности наблюдалось при достижении ККМ. Отрицательный эффект может быть связан с преимущественным разложением поверхностно-активного вещества при достижении ККМ.	Cecotti et al., 2018

1.2.5.2. Изменение ферментативной активности нефтезагрязненных почв в процессе восстановления

Исследования ферментативной активности необходимы как для мониторинга нефтезагрязненных самовосстанавливающихся и в процессе восстановления криогенных почв, так и в целях поиска источника выделения микроорганизмов – основы биопрепаратов полифункционального действия, способных к трансформации и биоконверсии углеводов.

Огромный потенциал и конкурентные преимущества в очистке нефтезагрязненных почв имеет метод биоремедиации, прежде всего, вследствие его экологической безопасности и низкой стоимости (Руденко, 2015). Среди способов биоремедиации наиболее известные – внутренняя биоремедиация или самоочищение, биостимулирование, биоаугментация, биоадсорбция, фиторемедиация. В предлагаемых технологиях *in situ* очистки нефтезагрязненной почвы в качестве биологической очистки используют внесение биопрепаратов, биопрепаратов совместно с сорбентами или биосорбентов (Кузнецов, 2015; Созина и др. 2023; Wang et al., 2022; Uzunok and Sonmez, 2023). В тоже время, использование препаратов и новых технологий для очистки почв требует детального анализа процессов, лежащих в основе биотрансформации поллютантов в природной среде. Необходима оценка процессов биоокисления нефти и НП на разных этапах ремедиации нефтезагрязненных почв. Особого внимания требуют вопросы разработки методологических подходов к контролю экологического состояния биотических и абиотических компонентов восстанавливаемых экосистем. С этой целью может быть использована кроме показателей остаточного содержания нефтепродуктов в почве, ее ферментативная активность. Многие исследования показали, что одновременное измерение активности нескольких ферментов в почве может быть более обоснованным, чем измерение одного фермента для оценки общей микробной активности (Каримуллин, Петров, 2021; Pape et al., 2015; Shen et al., 2016; Yi et al., 2016; Lee et al., 2020; Chakravarty et al., 2022; Borah et al., 2023).

Для оценки процесса самовосстановления и восстановления нефтезагрязненных почв с помощью препаратов используются окислительно-восстановительные и гидролитические ферменты. Yang et al. (2016) сообщили, что оксидоредуктазы могут использоваться в качестве основных биоиндикаторных ферментов, а гидролазы могут использоваться в качестве вспомогательных ферментов, связанных с рециркуляцией углерода, азота и фосфора. Свойства почвы очень неоднородны, и поэтому эти предложения требуют проверки в течение длительного периода и в различных загрязненных районах.

Внесение микробиологического биопрепаратов «Елена», «Ленойл», основанного на природном консорциуме микроорганизмов стимулировало каталазную активность в почве, загрязненной нефтью – 5 %, 10 % и 15 % (Рафикова, 2009; Шамраев, Гончарова, 2011). Под влиянием биопрепарата «Метаболит» в нефтезагрязненной почве наблюдались процессы стимуляции активности ферментов – каталазы, дегидрогеназы, пероксидазы и полифенолоксидазы (Багаутдинова, 2009). Применение бактериального препарата ИППЭС в процессе рекультивации почвы, загрязненной смесью мазута и дизельного топлива приводило к снижению инвертазной активности и повышению каталазной в 2 раза, дегидрогеназной в 2,2 раза (Мязин, 2014). Биодegradация и разложение углеводов с применением биопрепарата «Бациспектин» меняли со временем направленность окислительно-восстановительных реакций: возрастала активность каталазы, инвертазы и уреазы (Ефремова, Полянскова, 2014). Уровень уреазной активности был выше в 4,9 раза выше контрольного сразу после загрязнения нефтью серой лесной почвы и внесения биопрепарата «Деворойл». Динамика дегидрогеназной активности достигала 35,3% от контроля, в дальнейшем происходило снижение (Ахметзянова и др., 2010).

При внесении органических и органоминеральных удобрений наблюдались высокие значения липазной активности почвы (Идрисова и др., 2013). Активность уреазы, каталазы и дегидрогеназы в загрязненной нефтью почве увеличилась при

внесении сельскохозяйственных отходов и штаммов микроорганизмов (*Bacillus subtilis* CICC 21312 и *Candida bombicola* ATCC 22214) (Zhang et al., 2020).

Было определено влияние биоремедиации на активность ферментов: полифенолоксидазы, каталазы, липазы и дегидрогеназы (Wu et al., 2017). Послеобработки биопрепаратом на 7 сутки все активности повышались. Далее, полифенолоксидазная активность на 14 сутки снижалась, каталазная активность, напротив увеличивалась и повышалась на 21 сутки активность дегидрогеназы.

Биоремедиация с сочетанием микробов и фиторемедиацией имела синергетический эффект и приводила к усилению процессов дегидрирования, повышению активности каталазы, липазы, уреазы (Wang et al., 2022).

Биосурфактанты (рамнолипиды и липопептиды) оказывали положительный эффект на очистку почвы от токсичных поллютантов и повышали каталазную, дегидрогеназную активности (Zhuangabc et al., 2022).

В работе показано увеличение активности дегидрогеназы и полифенолоксидазы в загрязненных почвах, обработанных микроорганизмами, иммобилизованными на модифицированной гуминовой кислотой золе биотоплива (Wang et al., 2019).

Активность ферментов каталазы и уреазы в нефтезагрязненной почве повышалась после введения в нее штаммов микроорганизмов и микробной композиции (*Thalassospira xiamenensis* UOM 2, *Enterobacter* sp. UOM 3, *Pseudomonas songnenensis* UOM 4) (Rafikova et al., 2022).

1.3. Отходы нефтяной промышленности

Персистентными (химическо стойкими) загрязняющими веществами называются вещества, которые почти не разрушаются в природе или разрушаются очень медленно (Химия ..., 2013). В результате воздействия этих веществ происходит сбой естественного хода динамики популяций, круговорота веществ и энергии, функционирование экосистем.

Химически стойкими загрязнителями являются отходы нефтяной

промышленности, получаемые на разных производственных стадиях. Они несут за собой загрязнение, накопление годами в среде и долгий период их деструкции. К персистентным загрязнителям относятся жидкие пластовые, буровые сточные воды, некондиции, содержащие нефть, твердые осадки резервуаров от нефтепродуктов, буровые шламы, растворы, нефтяные шламы после переработки нефти и трубопроводные отходы (Коршунова, 2019). Загрязненный щебеночный балласт железнодорожного полотна является отходом IV класса опасности.

Принято твердые отходы нефти и отходы в виде паст обозначать термином «нефешламы» (Коршунова, 2019). Нефешламы – это неоднородные системы, включающие в себя песок, ил, металлы, нефть и нефтепродукты, воду и пр. Соотношение примесей различно. Они содержат в среднем (масс.) 10–56 % нефтепродуктов, 30–85 % воды, 1,3–46 % твердых примесей (Херрера-Альварado, 2015; Memon et al., 2021).

Самым значительным по массе отходом нефтяной промышленности являются нефтеотходы 3 класса опасности (умеренно опасные отходы, содержание нефтепродуктов 15 % или более) (ФККО, 2017). Их целесообразно отнести к вторичным материальным ресурсам (Шпербер и др., 2013; Yan et al., 2012; Патент № 2487920). Отходы 4 класса опасности – это малоопасные вещества, содержание нефтепродуктов в которых менее 15 % (ФККО, 2017). С каждым годом возрастающий объем отходов приводит к потере сельскохозяйственных и лесных угодий, накоплению токсикантов в почве, проникновению в водные ресурсы и накоплению в них. Все это связано, прежде всего с тем, что в производстве мало продуманы технологии переработки отходов и использования их в качестве вторичного сырья.

Анализ литературных данных указывает на множество экспертных оценок объемов их образования: Чалов (2013), Соколов (2017) указывают на то, что процент отходов составляет 5 – 10 % от объема годовой нефтедобычи. По мнению Гурылевой (2013) объем отходов может составлять 5 – 7 тыс. тонн перерабатываемой нефти. Житник (2016) отмечает накопление нефешламов –

100 млн. тонн, а их переработка составляет всего 10 %. Мустафин (2013) указывает на накопление отходов более чем 2млн. тонн в год в Республике Башкортостан и 2,5 млн. тонн в год в Республике Татарстан, в Западной Сибири – 3 млн. тонн (Соколов, 2017), в Республике Коми – от 15 до 40 тыс. т. (Отчет..., 2020).

1.3.1. Классификация нефтесодержащих отходов

По условиям образования нефтесодержащие отходы делятся на несколько видов (таблица 1.11).

Таблица 1.11 – Условия образования нефтесодержащих отходов

Отходы	Ссылка
Загрязненный щебеночный балласт железнодорожного полотна	ГОСТ..., 2015; Величко и др., 2016
Сбросы при зачистке нефтяных резервуаров, аварийные разливы при добыче и транспортировке нефти, амбарные нефти	Владимиров, 2014
Грунтовые нефтешламы, придонные нефтешламы, нефтешламы резервуарного типа	Крюкова, 2014 Петровский и др., 2018 Шрам и др., 2018
Жидкие нефтеотходы, отходы ремонта, нефтегрунт, асфальто-смолопарафиновые отложения	Валиев и др., 2019
При очистке сточной воды, как без реагентов, так и с ними образуются нефтесодержащие стоки. Перемешанные отходы после применения химических поверхностно активных веществ, флотоционных концентратов и т.д. отработанные масла	Jafarinejad, 2017
Донные отходы, после разлива нефти, отходы, образующиеся при бурении скважин с применением нефтяных растворов и отходы, образующиеся при добыче нефти	Koolivand et al., 2017

Щебеночный балласт является основным балластом для железных дорог ОАО «РЖД», распределенным под шпалами слоем не менее 0,4 м (Величко, 2017). В качестве загрязнителей железной дороги – продукты износа железобетонных шпал; частицы, перемещающиеся вверх из подбалластного гранулированного слоя; частицы, проникающие из земляного полотна; падающие с вагонов частицы перевозимых сыпучих грузов, продукты дробления и истирания балласта, а также внешние засорители (Бодяков, 2017; Величко, Толстикова, 2016). В соответствии с ГОСТ (2015) основным критерием для выбора участков, подлежащих среднему и планово-предупредительному ремонту, является загрязненность щебня.

Подвижные источники загрязнения. Выбросы загрязняющих веществ от подвижных источников составляют в среднем 1,65 млн. т в год. Основное загрязнение происходит в районах, где в качестве локомотивов используют тепловозы с дизельными силовыми установками (Популов, 2020). При остановке и трогании поездов из буксируемых колесных пар выливаются жидкие смазочные материалы (Колоев, Потапова, 2018). Сухой мусор и сточные воды поступают на перегоны (60 %), остальное на территории станций из пассажирских вагонов (180 – 200 м³ водных стоков на каждый километр пути).

Стационарные источники загрязнения. На железнодорожном транспорте имеется 35 970 стационарных источников выбросов в атмосферу. От них поступает в атмосферу 197 тыс. т загрязняющих веществ ежегодно, в том числе 53 тыс. т твердых веществ (мазут и др. нефтепродукты), 144 тыс. т – газообразных. На железнодорожном транспорте насчитывается около 2000 котельных. Более 90 % выбросов приходится на котлоагрегаты (Популов, 2020).

Сточные воды пунктов обмывки пассажирских вагонов содержат в основном взвешенные вещества и нефтепродукты, а также различные бактериальные загрязнения. Сточные воды пунктов обработки грузовых вагонов содержат нефтепродукты, минеральные удобрения, химикаты, строительные материалы, т. е. те вещества, которые перевозились в вагонах, а также элементы смазки узлов этих вагонов (Экология..., 2019).

Щебеночный балласт при загрязнении не упругий, маслянный, с налипанием посторонних веществ, что снижает дренажные свойства. При таком состоянии балластной призмы нарушается плавный ход поезда, что сказывается на безопасности движения. Оздоровление пути в этом случае возможно двумя вариантами: очистка щебня или его замена, что менее экономично. Причем, целесообразно очищать только щебеночный балласт твердых пород. Мягкие известняковые породы покрываются неудаляемой естественным способом нефтяной грязью, сильно загрязненные (Maslennikova et al., 2017).

В Республике Коми, в ХМАО и НАО основным источником нефтешламов является подвижная нефть, загрязненная нефтью почва, в основном поверхностная, снятая с аварийных площадей и складированная на специальных площадках, котлованах временного хранения грунт, содержащий нефть, который образуется возле скважин, нефтепроводов (Оценка..., 2015). Краткая характеристика шламов в зависимости от их происхождения представлена в таблице 1.12.

Таблица 1.12 – Характеристика шламов

Источник шлама	Характеристика субстрата	Уровень загрязнения нефтью и НП, г/кг
1. Аварийные разливы нефти – загрязненный слой почвы и жидкая нефть (жидкий нефтешлам)	1.1. Органический субстрат (верхний плодородный слой почвы с остатками растений, торфяной (торфянистый субстрат с остатками болотной растительности)	250 – 650
	1.2. Минеральный субстрат (песок, глина, суглинок)	100 – 250
	1.3. Смешанный грунт (верхний органогенный горизонт почвы с остатками растительности и подстилающим минеральный горизонт (песчаный или суглинистый)	150 – 450

Продолжение таблицы 1.12

Источник шлама	Характеристика субстрата	Уровень загрязнения нефтью и НП, г/кг
2. Ремонт и эксплуатация скважин	2.1. Минеральный грунт (песок, глина, суглинок) 2.2 АСПО, образующийся на внутренней поверхности труб, шлам зачистки резервуаров	100 – 250 350 – 950
3. Отходы после переработки шлама	3.1. Камни, песок, глинистые частицы, органический субстрат, остатки растений	20 – 150

1.3.2. Последствия загрязнения почвы нефтесодержащими отходами

Нефтяные отходы накапливаются в шламохранилищах и местах складирования десятилетиями, периодически подвергаются либо отмывке, либо отжигу, а сами склады и амбары зачастую являются объектом несанкционированных сливов реагентов, неконтролируемых технологических экспериментов. Длительное хранение приводит к образованию не менее токсичных химически стойких веществ и их распространению, что приводит к изменению природных экосистем и воздействует на биоразнообразие. (Оценка..., 2015; Jafarinejad, 2017).

Изменение морфологических и физических и химических свойств почвы под действием нефти и влияние нефтяного загрязнения на биологическое разнообразие в почвенной и водной среде описано выше п.1.2. Однако, следует отметить, что влияние персистентных загрязнителей значительно превосходит по степени и длительности воздействия как на абиотические, так и биотические факторы почв (Крапивский, 2021).

1.3.3. Методы переработки нефтяных отходов

1.3.3.1. Очистка щебеночного балласта на железных дорогах

В России и зарубежом применяются специализированные щебнеочистительные машины, у которых реализуется принцип механической очистки путем грохочения и отсеивания засорителя (Путевые машины..., 2017) (выправочно-подбивочно-рихтовочной машины ВПР-02М, ВПРС-02, DUOMATIC 09-32 CSM, СЧ-600, СЧ-601, СЧ-801, ЩОМ-6БМ, ЩОМ-6У, ЩОМ-6Р, ЩОМ-1400, а также RM-80 UHR фирмы "Plasser-Theurer" Австрия и RM-2002 Австрия) (Федасов, 2021). В некоторых случаях применяются работы с дополнительной промывкой балласта водой и/или моющими растворами ПАВ. Однако, сильно загрязненные балласты (особенно нефтепродуктами) не могут быть очищены. Кроме того, очищенный с помощью щебнеочистительной машины щебеночный балласт возвращается на железнодорожное полотно, а загрязнители от него сбрасываются по скатам полотна или в лучшем случае вывозятся на полигоны, также как щебень, не поддающийся очистке. Такая технология очистки создает вторичные отходы, для утилизации которых необходимо дополнительное оборудование и средства.

Если балласт имеет большой процент влаги, то его выбрасывают или уширяют им обочины земляного полотна.

Уборка загрязнителей после очистки щебеночного балласта.

Мусор, после очистки щебеночного балласта высыхает и разносится ветром и вновь засоряет на откосах балластную призму. В любом случае, загрязнитель представляет собой вторичное загрязнение, требующее дальнейшей утилизации, а следовательно, расходы связанные с ней. Таким образом, очистку щебеночного балласта осуществляют механическим способом вручную или с применением щебнеочистительных машин (Чалова, 2015). Применение биологической очистки щебеночного балласта не практикуется в как в нашей стране, так и зарубежом. Исследования, проводимые в этом направлении являются частным случаем, проводятся в лаборатории и в лучшем случае описаны в статьях, патентах и

диссертационных работах без внедрения результатов (Асонов, Быстрова, 2014; Анчугова и др., 2019; Патент № 2711162).

1.3.3.2. Способы утилизации нефтешлама с утратой ресурсного потенциала

Переработка нефтешламов является довольно трудной задачей и большинство методов, используемых для их переработки, часто не оправдывают себя по каким-либо причинам. Межфазная стабильность стареющего нефтешлама препятствует извлечению и утилизации нефтяных ресурсов (Liu et al., 2021). Нефтяные отходы обезвреживают разными технологиями и в конце получают различные результаты (Оценка..., 2015; Крапивский, 2021). Группа механических методов основана на разделении фаз за счет отмыва. Наибольшее распространение получила группа **механических методов** (Крапивский, 2021; Патент № 2710174; Патент № 2620266). При этом, получают следующие продукты : нефть, товарооборотная, грунт, который должно соответствовать нормативам, если он в дальнейшем используется (например для рекультивации земель) или в качестве отхода 4 – 5 класса. И более опасными методами при разделении, являются сточные воды, которые трудно поддаются очистке и загрязняют окружающую среду. В настоящее время актуальным является исследование и разработка новых методов очистки сточной воды после разделения нефтяного шлама.

В основе **термических методов** лежит обработка нефтешлама высокой температурой – сжигание в открытых амбарах, печах различных конструкций, термосушка, способ AOSTRA TASIJK, сочетающий процессы пиролиза, сжигания и термической сепарации, пиролиз (Крапивский, 2021; Патент № 2560155; Патент № 2649357; Silva et al., 2017; Hu et al., 2020). Основным недостатком термического метода является вторичное загрязнение атмосферы и почв, сопровождающееся выбросом диоксидов серы и азота, сажи, и других канцерогенов. В связи с этим во многих странах сжигание разрешено только при условии предварительной очистки нефтесодержащих отходов от экологически вредных примесей. Также, для термического метода используется сложное

оборудование со специфической эксплуатацией и высокими энергозатратами.

Физико-химические методы основаны на введении деэмульгаторов и поверхностно-активных веществ для утилизации отходов с низким содержанием примесей (Новахов, Бобович, 2014; Красногорская и др., 2020; Патент № 2691422; Патент № 2724456; Huang et al., 2014; Lee et al., 2016; Unissa, Hassanpour, 2017). Этот метод не приносит таких эффективных результатов, как механическое разделение фаз, и несмотря на то, что он гораздо дешевле, в процессе применения ПАВ образуются высокотоксичные отходы, т.е. метод приводит к вторичному загрязнению (Johnson et al., 2021). Применение синтетических ПАВ приводит к накоплению в почве веществ, не свойственных для окружающей среды. Практически во всех регионах России наибольшее применение получил метод с использованием центробежного разделения отходов (Гарабаджиу, 2012).

Не очень экологичный метод, применяемый при невысоком нефтяном загрязнении – метод землевания. Нефтяной шлам перемешивают с почвой, торфом, илом очистных сооружений (избыточным), применяют биологические способы рекультивации (биопрепараты, растения). Этот метод используется в тех случаях, когда шлама немного и его транспортировка экономически невыгодна (Оценка..., 2015; Патент № 2601973; Патент № 2625498).

Альтернативу физическим, термическим, физико-химическим методам составляют **биологические методы** разложения нефтяных углеводородов благодаря их экологической безопасности и экономической эффективности. В настоящее время широко применяются in-situ технологии биоремедиации – очистки путем деятельности биоты в почвах и водоемах (Оценка..., 2015; Патент № 2704654).

В составе микробных сообществ нарушенных почвенных и водных экосистем всегда присутствуют микроорганизмы, использующие углеводороды в качестве питательного субстрата. Наиболее активными нефтедеструкторами являются *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Flavobacterium* sp., *Mycobacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Nocardia* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp.,

Sphingomonas sp., грибы родов *Trioderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mortierella* и дрожжи *Aureobasidium*, *Candida*, *Rhodotorula*, ризобактерии рода *Azospirillum*.

Биодеградация углеводов зависит от интенсивности биотических и абиотических факторов, таких как: химические свойства самих нефтеотходов и почвенной матрицы, концентрация и структура углеводов, биогенных элементов, температуры, влажности и т.д. Химическая структура углеводов влияет на их сорбцию и биологическую доступность (Minai-Tehrani et al., 2015).

Углеводы используются микроорганизмами в качестве источника энергии и углерода практически до полной минерализации. Гидрофобность углеводородной молекулы имеет большое значение для химизма микробиологического окисления этих соединений, их транспорта в микробную клетку, т.е., микроорганизмы потребляют растворенные молекулы. Следовательно, скорость растворения соединения – решающая единица измерения биологической доступности таких соединений во всех средах. Общая последовательность нефтяных компонентов в соответствии со снижающейся биологической доступностью и возможностью разложения микроорганизмами: *n*-алканы > разветвленные алканы > низкомолекулярные алкилированные соединения ароматического ряда > циклоалканы > полициклические ароматические углеводороды > смолы > асфальтены (Тимергазина, Переходова, 2012).

Методы биологической трансформации углеводов в составе нефтеотходов в последнее время набирают все больше сторонников, поскольку только при их использовании нефтеотходы не нуждаются в захоронении, можно говорить о полной нейтрализации без образования вторичных отходов. Известны многочисленные биопрепараты (Щемелинина и др., 2014; Морозова и др., 2015; Зенкевич и др., 2017, 2019; Кондрашина и др., 2018; Филонов и др., 2018; Коршунова, 2019; Патент № 2378060; Патент № 2501852) – «Биор-АВ» «Деворойл», «Микробак», «Ленойл», «Родер», «Микрозим ТМ», «ПЕТРО ТРИТ», «Мелафен», «Путидойл», «Универсал» и разные технологии, интенсифицирующие разрушение углеводородного компонента в замазученных

грунтах (Патент № 2646242; Патент № 2602179; Патент № 2521707). В Республике Коми используют методы биологической доочистки нефтешламов после извлечения потенциально-товарной нефти на специально отведенных полигонах по принципу рекультивации загрязненных нефтью земель, либо проводят работы по компостированию нефтеотходов с активирующими добавками (Маганов и др., 2006). Объекты с применением таких технологий есть и в Усинском районе РК, и в НАО на территории Харьягинского месторождения.

1.3.3.3. Способы переработки нефтешламов, основанные на извлечении материального и энергетического потенциала отходов

Экономически выгодным способом утилизации нефтяного шлама считаются переработки с получением товарной безопасной продукции, применяемой в строительстве, для дорожных материалов, вторичные нефтепродукты и т.д. (Гридина, 2014; Ишков и др., 2016; Патент № 2584031; Патент № 2506303; Патент № 2541957; Патент № 2536906; Патент № 2705337; Патент № 2685214; Johnson et al., 2015; Khan et al., 2017; Asim et al., 2021; Hochberg et al., 2022).

Для различных марок НШ даются рекомендуемые пути использования (таблица 1.13.) (Пименов, 2018).

Таблица 1.13 – Классификация нефтесодержащих отходов и методы переработки

Марка НШ	Источник	Рекомендуемые пути использования
Марка А	донные осадки резервуаров	Получение смазки для механических изделий; Смазки для форм при производстве железобетонных изделий В качестве профилактики смерзания угля на обогатительных и для предохранения от ветровой эрозии при его перевозке, сжигание в качестве печного топлива
Марка Б-1	отработанный буровой	Для изготовления кирпича
Марка Б-2	раствор	Для изготовления керамзита
Марка В	нефтешламы, образующиеся при ремонте скважин и авариях на нефтепроводах	Получение битума для строительства, асфальтобетонной смеси, профилактики оледенения и в качестве получения облицовки для различных хранилищ
Марка Г-1	нефтешламы нефтеперерабатывающей	получение битума
Марка Г-2	промышленности	получение сернистого газа, сернокислого аммония и высокосернистого кокса
Марка Д	нефтешламы, образующиеся в процессе мойки труб на трубных базах	получение парафина

Некоторыми авторами (Литвинова и др., 2016; Akchurin et al., 2016) рекомендуется получать органоминеральные добавки на основе нефтяных шламов

и отработанного сорбента, пригодные для использования в качестве вторичных материальных ресурсов в строительстве.

Нефтешлам входит в состав керамических масс для производства кирпича (Патент № 2586645), отходы нефтяного шлама для отсыпки насыпей вдоль дорог (Патент № 2551560) смешивая с модификатором (синтетические ПАВ на основе октилсульфатов и сульфанола) и негашеной извести (Патент № 2577837; Ишков и др., 2012а, 2012б). Для отсыпки грунтов и дорожного покрытия используется достаточно много и других разработок и технологий (Unissa, Hassanpour, 2017; Gao et al., 2018).

Нефтешламы используются в качестве котельного топлива (Шпербер и др., 2017). На основе нефтешламов получают устойчивые водотопливные эмульсии при вибрации и кавитации одновременно (Черкасов и др., 2013).

Изучен способ обезвоживания нефтешламов в бункере для извлечения нефтепродуктов из грунта. (Клыков, Алушкина, 2020). Используют ультразвуковую или акустическую кавитацию для извлечения нефти из нефтешламов (Luo et al., 2020).

Нефтепродукты для строительства и для энергетическом производстве получают разбавлением тяжелых фракций отходов маслами, промывкой, смазками, что увеличивает выход конечного продукта – до 60 % (Патент № 2732242).

В основу еще одной технологии положена обработка нефтешламов микроволновым излучением. Из углеводородсодержащих отходов извлекаются непредельные и ароматические углеводороды, а битуминозный остаток используется в производстве дорожных покрытий (Шавшукова, Удалова, 2017).

Известен способ переработки нефтяных шламов с использованием СВЧ электромагнитного воздействия, включающий непрерывное воздействие СВЧ электромагнитного поля на движущуюся обрабатываемую среду (Патент № 2494824).

Вторичные нефтепродукты с высоким выходом получают благодаря способу пиролиза (Hu et al., 2017; Lin et al., 2018; Tang et al., 2019; Barbosa et al.,

2020) При пиролизе нефтешлама от зачистки резервуаров можно отделить 70 – 84 % нефтепродуктов (Патент № 2649357).

Есть способ переработки нефтяных остатков и нефтешлама процессом замедленного коксования, включающего нагрев нефтяного остатка и смешивание его с рециркулятом с образованием вторичного сырья (Патент № 2495088).

Переработка резервуарного нефтешлама может вестись методом гидротермического диспергирования (Цивадзе и др., 2020). Эффективны способы переработки нефтешламов крекинг, благодаря которому на выходе топлива для моторов и котельных (Kolesnikov et al., 2016), с применением процессов ректификации собранной с поверхности нефтешламов нефти (Ke et al., 2021).

Центрифугирование способствует расщеплению суспензии шлама на отдельные фазы путем механического отделения нефти, воды и твердых частиц от нефтесодержащего шлама (Motevali et al., 2020).

Анализ публикаций и патентов по переработке нефтешламов, основанных на извлечении материального и энергетического потенциала выявил 3 основных области применения нефтешламов: для производства строительных материалов или сопутствующих им компонентом, использование в качестве топлива в котельных, получение топливных компонентов, мазута и профилактических смазок. Недостаток этих технологий – высокие общие затраты на производство, а также неполная утилизация приводит к появлению вторичных отходов, не обеспечивающих экологическую безопасность для окружающей среды.

Биологический способ утилизации нефтяных шламов является самым экологичным (Janajreh et al., 2020; Yang et al., 2020), но направлен в основном на деструкцию углеводородов без извлечения материального ресурса (описано в п. 1.2.5.).

Принципиально новым подходом будет переработка нефтешламов с извлечением материального потенциала путем биоконверсии. При инокуляции микроорганизмами нефтезагрязненных водных объектов (жидких нефтешламов,

сточных вод нефтепереработки и т.д.) происходит накопление жирных кислот, которые в дальнейшем могут быть использованы для получения биодизеля (Щемелинина, 2017; Патент № 2645254; Патент № 2692629; Shchemelinina et al., 2022). Накопление биомассы микроорганизмов с высоким содержанием липидных метаболитов – источников биотоплива, на отходах нефтеперерабатывающего производства видится перспективным для решения не только экологической, но и энергетической проблемы.

1.4. Биоконверсия нефтяных отходов

В последние десятилетия потребление энергии резко возросло, в основном благодаря устойчивому экономическому развитию и индустриализации (Hoang et al., 2021). Большая часть мировых потребностей в энергии удовлетворяется за счет ископаемого топлива, отходы которого приводят к значительным изменениям в окружающей среде (Shindell et al., 2019), особенно это стало заметно во время пандемии COVID19, когда транспорт использовался ограниченно и снизилось количество загрязнителей (Le et al., 2020).

Во всем мире ведутся исследования замены топлив с низкими выбросами в окружающую среду. Биодизель является отличным альтернативным топливом для двигателей, поскольку он нетоксичен, возобновляем и производится на месте (Shalid et al., 2021; Rajamohan et al., 2022).

В странах Европейского Союза биодизель начал производиться в 1992 году. К 2010-му году в этих странах уже насчитывалось 245 заводов по производству биодизельного топлива с общей мощностью 22 млн. тонн. На сегодняшний день выработка биодизельного топлива ведется более чем в 30 странах (Biodiesel..., 2021). В некоторых государствах на биодизельное топливо переводят муниципальный транспорт, поскольку биодизель является более экологичным топливом, нежели бензин. В частности, в выхлопных газах автомобилей (работающих на биодизеле) снижается содержание окиси углерода, сернистых соединений и – особенно важно – полициклических ароматических углеводородов

(известных как канцерогенные вещества) (Tsita, Pilavachi, 2017; Sengupta, Cohan, 2017).

Примером в РФ может послужить строительство в 2018 г. завода по производству биодизеля из мусорных отходов в Амурской области на территории опережающего развития «Приамурская» (Биодизель ..., 2018), фермерское хозяйство Иркутской области, производящее рыжиковое масло (Сенаторова, 2017), производстве рапсового масла в Томской области (Медведева, 2019).

Биодизель производится из любого липидного сырья. Жирные кислоты, растительные масла (в настоящий момент используются более 350 видов масличных культур) (таблица 1.14), жиры животных и рыб, рыжиков, водорослей, отходов производств – **биодизель «первого» и «второго» поколения** все это строительный материал топлива будущего, преобразованный путем химической модификации (Патент № 2724886; Патент № 2646755; Патент № 2487920; Патент № 2538390; Lichts, 2015; ten Kate et al., 2017; Carmona-Cabello et al., 2018; Pinzi et al., 2018; Sitepu et al., 2020; Mathew et al., 2021; El-Shafay et al., 2023; Yang et al., 2023).

Таблица 1.14 – Доля сырья, используемая для производства биодизеля в мире в 2013 г.,% Источник: составлено автором по (Souza et al., 2016).

Сырье	Доля, %
Соевое масло	31
Рапсовое масло	24
Пальмовое масло	18
Не выявлено	11
Животный жир	6
Переработанный комбикорм и растительное масло	6
Кукурузное масло	2
Подсолнечное масло	1
Хлопковое масло	1

Биодизель «третьего» поколения. Известно, что среди возобновляемых источников энергии биомасса всегда находила наиболее широкое применение в качестве матрицы для получения различных веществ – биотоплива (биодизель, биоэтанол) (Leiva-Candia, Dorado, 2014; Патент № 2539744; Патент № 2661086; Castillo López et al., 2015; Koppolu, Vasigala, 2016; Voloshin et al., 2016; Ali Nazem et al., 2017; Yuzbasheva et al., 2018; Dourou et al., 2018; Chowdhury et al., 2019; Sadatshojaei et al., 2020; Ananthi et al., 2021; Shchemelinina et al., 2021; Wicker et al., 2021; Saxena et al., 2022; Goswami et al., 2022; Shchemelinina et al., 2022; Khandelwal et al., 2023).

Получение биодизеля из различных видов микроорганизмов дает ряд преимуществ перед растительными культурами (Dickinson et al., 2017):

- продуктивность некоторых микроорганизмов (например, дрожжей) по биомассе и выходу жирных кислот на порядки превышает выход продукта с масличных растений;
- площадь выращивания микроорганизмов значительно меньше – по сравнению, например, с рапсом в 20 – 100 раз. С учетом выращивания на отходах производства – не требует дополнительных площадей;
- выращивание микроорганизмов требует значительно меньше водопотребления, чем зерновые культуры, их можно выращивать в загрязненной воде;
- получая биотопливо одновременно можно получить и другие продукты для различных областей промышленности (глицерин, хлорофил, астаксантин и пр.);
- технологии выращивания биомассы микроорганизмов нетрудоемки, просты и доступны даже при отрицательных зимних температурах.

Основной задачей для получения биомассы являются – условия, методы культивирования, а так же субстраты, на которых происходит накопление биомассы. Субстратом для культивирования микроорганизмов могут быть также нефтяные отходы (нефтепереработки, нефтяные шламы) (Патент № 2692629;

Патент № 2645254). Помимо накопления биомассы микроорганизмов параллельно решаются дополнительные проблемы – утилизация отходов и биоремедиация мест нефтяных аварий. Кроме того, известно, что основой цены биодизеля является стоимость производства, обусловленная главным образом ценой сырья. С этой позиции нефтеотходы – приемлемое сырье с низкой стоимостью, т.к. не требуют выделения сельскохозяйственных угодий, не зависят от сезонов вегетации и создают дополнительную выгоду при переработке. Получение биодизеля не сложный процесс с использованием простого оборудования (de Jesus, 2013 и Gaul, 2013). При наличии органических отходов, в том числе нефтепродуктов мини-заводы можно устанавливать стационарно для получения и обеспечения топливом рядом стоящих объектов.

Таким образом, микроорганизмы-нефтедеструкторы и нефтеотходы, как питательная среда для накопления липидов – перспективный источник получения биодизеля третьего поколения.

1.5. Трансформации нефти и нефтепродуктов. Микроорганизмы целевого назначения

Значительное число нефтедобывающих, нефтеперерабатывающих предприятий сосредоточено на севере европейской части страны и в Западной Сибири в условиях холодного климата (Газпром Трансгаз, ООО «Газпромнефть-Ноябрьскнефтегаз», Газпромнефть-Развитие, Газпромнефть-Сахалин, Газпромнефть-Хантос, ОАО «Томскнефть», Gazprom Neft Vadra ИМ, Salvm Petroleum Development NV, ООО «КомиАрктикОйл», ПАО «Коминнефть», ООО «ЛУКОЙЛ-Западная Сибирь», ООО «Лукойл-Пермь», ООО «Лукойл-Приморьнефтегаз» ООО НК «Юграннефтепром», нефтяная компания «Роснефть», нефтяная компания «Русснефть»). С учетом стрессовых природных условий этих регионов восстановление почв, грунто и донных отложений становится невозможным только за счет местной биоты, без применения разработанных с индивидуальными технологиями. Самовосстановление может продолжаться в течение

десятилетий (Алексеев и др., 2011; Karnaeva et al., 2021). Исходя из вышесказанного, в северных регионах необходим подбор и применение технологий для ускорения очистки окружающей среды от углеводородов, с внесением психротолерантных микроорганизмов, способных к продуцированию биологических поверхностно активных веществ с достаточным накоплением жирных кислот для решения задач биоконверсии углеводородов в целевые продукты.

1.5.1. Психротолерантные микроорганизмы для биремедиации почвенных и водных экосистем в условиях севера

Штаммы бактерий, выделенные из загрязненных нефтью почв Красноярского края – психротолерантны, с высокой окислительной способностью, что делает перспективными их использование для ликвидации последствий нефтезгрязнений в регионах с активной нефтедобычей и коротким весенне-летним периодом. Способностью к деструкции толуола β -метилнафталина в условиях пониженных температур обладает штамм *Pseudomonas* sp. 1.1. Штаммы *Rhodococcus* sp. 3.3 и *Acinetobacter* sp. наиболее активно проявили себя как деструкторы нефтяных углеводородов, а культура *Pseudomonas* sp. 1.2 неплохо зарекомендовала себя в разложении декана и толуола (Коршунова и др., 2012).

Выявлена способность быстро разрушать *p*-алканы, фенол, пирен и антрацен при температуре 1–20 °С обнаружена у штаммов *Rhodococcus eiythropolis* (strain BZ4), *Rhodococcus cercidiphyllus* (strain BZ22), *Arthrobacter sulfureus* (strain BZ73) and *Pimelobacter simplex* (strain BZ91) (Margesin et al., 2013).

В микробиоценозе мерзлотных почв Якутии доминируют психротолерантные бактерии рода *Bacillus*, которые являются одной из перспективных групп в биотехнологии (Иванова и др., 2012; Тарабукина и др., 2017).

Деградационным потенциалом в условиях низких температур по

отношению к алифатическим углеводородам нефти обладал штамм *S. murashlinskyi*, а к ароматическим – *T. maxima* (Куликова и др. 2016).

Франк с соавторами (2020) показал повышение эффективности ремедиации нефтезагрязненных почв в природно-климатических условиях Севера Томской области и сопредельных регионов с применением аборигенных микроорганизмов.

Многолетние исследования по выделению, изучению свойств психротолерантных микроорганизмов и возможностей их применения в биоремедиации нефтезагрязненных объектов окружающей среды проводятся в лаборатории биологии плазмид Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН (г. Пущино). В результате проведенного скрининга было отобрано 15 наиболее эффективных психротолерантных штаммов, образующих биоэмульгаторы и способных к деградации высоких концентраций нефти и нефтепродуктов (до 30%) в присутствии соли (до 5% NaCl) в температурном диапазоне (4-42°C) при значениях pH от 4 до 10. Штаммы принадлежат к родам *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcus* и *Serratia* (Филонов, 2016). На основе консорциума психротрофных, галотолерантных микроорганизмов-деструкторов углеводов pp. *Rhodococcus* и *Pseudomonas*, продуцирующих биоэмульгаторы, разработан и запатентован биопрепарат «МикроБак» для биоремедиации почв (Филонов и др., 2007б; Нечаева, 2009; Ветрова и др., 2013б; Филонов, 2016; Филонов 2020; Патент № 2378060).

Предложен штамм бактерий *B. subtilis* «Колыма-7/2к», применение которого позволяет за 3 месяца летнего периода снизить концентрацию нефти с 135143 до 645 мг/кг (Патент № 2446900).

Штаммы *Arthrobacter rhombi*, *Salinibacterium amurskyense*, *Shewanella vesiculosa*, *Nocardia coeliaca* являются биодеструкторами, биоэмульгаторами, галотолерантны (30 г/л NaCl), образуют внеклеточные и внутриклеточные поверхностно активные вещества (Федоренко, 2016; Федоренко и др., 2016).

Консорциум из трех психроактивных микроорганизмов (*Arthrobacter rhombi*

ARC 16, *Nocardia coeliaca* ARC 1, *Cobetia marina* ARC 11), изолированных из портовой зоны г. Мурманска предназначены для утилизации углеводородных загрязнений акваторий и береговой линии при температуре 4-20°C и солености до 30 г/л (Патент № 2633690; Патент № 2624063).

Полевые испытания (Томская область) показали высокую эффективность деструкции нефти под воздействием биопрепарата «Абориген», на основе психротолерантных углеводородокисляющих бактерий, принадлежащих к родам *Acinetobacter* и *Oleomonas* (Франк и др., 2020).

1.5.2. Применение биосурфактантов и микроорганизмов их продуцирующих, для очистки почвы и воды от углеводородного загрязнения

Биосурфактанты – поверхностно-активные вещества, вырабатываемые микроорганизмами, являются относительно новыми продуктами биотехнологии, биodeградируемы, нетоксичны, и могут заменить синтетические сурфактанты. Биосурфактанты используются в разных областях промышленности (химической, фармацевтической, пищевой), а также в экологической биотехнологии (Иванова и др., 2016; Плешакова, 2017; Нгуен и др., 2018; Понаморева и др., 2018; Коржова, Молодкина, 2019; Коршунова и др., 2019; Янтурина, Шахмаев, 2019; Кузнецов и др., 2020; Kosaric, Sukan, 2014; Matvyeyeva et al., 2014; Mulligan et al., 2014; Silva et al., 2014; Mao et al., 2015; Varvaresou, Iakovou, 2015; De Almeida et al., 2016; Freitas et al., 2016; Ivshina et al., 2016; Joy et al., 2017a; Sharma, Oberoi, 2017; Gholami-Shiri et al., 2017; Adetunji et al., 2021; Selva Filho et al., 2023).

Самыми эффективными продуцентами являются микроорганизмы. Они продуцируют биоПАВ с разнообразными химическими структурами. Гидрофобная часть этих веществ (неполярный «хвост») наиболее часто представлена остатками жирных кислот, а гидрофильная (полярная «головка») – остатками фосфорной кислоты, карбоксильными группами природных кислот, аминокислотами, пептидами, моно-, ди-, или полисахаридами и др. (Льонг и др.,

2019). БиоПАВ делятся на высокомолекулярные (эмульгаторы) и низкомолекулярные (биосурфактанты). К первым относятся полисахариды, липополисахариды, протеины, липопротеины; ко второй – гликолипиды, липопептиды (Silva et al., 2014).

Молекулы углеводов гидрофобны и недоступны для микробных клеток. Важными метаболитами микроорганизмов являются биосурфактанты, которые способны повышать биологическую доступность углеводов, переводя их в водную фазу (Бектурова, Масалимов, 2013), а также модифицировать внешние поверхности микроорганизмов путем их гидрофобизации для обеспечения лучшего контакта с молекулами углеводов (Mao et al., 2015; Pirog et al., 2015; Santos et al., 2016).

Способность к образованию биоПАВ выявлена у широкого круга микроорганизмов – это представители рр. *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Candida*, *Nocardia*, *Bacillus*, *Torulopsis*, *Ochrobactrum*, *Gordonia*, *Burkholderia*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus xylosus* и *Pseudomonas aeruginosa*, *Scedosporium sp.* и др. (Ившина и др., 2012; Соколова, 2013; Замотаев и др., 2015; Делеган, 2016а,б; Пирог и др., 2016а, 2016б; Льюнг и др., 2016, 2017; Петриков и др., 2017; Беловежец и др., 2021; Ángeles, Refugio, 2013; Joshi, Shekhawat, 2014; Matvyeyeva et al., 2014; Bezza et al., 2015; Pirog et al., 2015; Freitas et al., 2016 ; Almatawah, 2017; Barakat et al., 2017; Bezza, Chirwa, 2017; Santos et al., 2017; Sharma, Oberoi, 2017; Befkadu, Chen, 2018; Karlapudi et al., 2018; Vieira et al., 2021; Mulligan et al., 2021; Atakpa et al., 2022; Ambaye et al., 2023).

Поверхностно-активные вещества, полученные химическим синтезом, используются в различных отраслях сельского хозяйства, медицины, промышленности, включая добычу и переработку нефти, а также биоремедиацию нефтезагрязненных экосистем. Синтетические ПАВ, используемые в настоящее время недостаточно эффективны, при этом продукты их деструкции экологически небезопасны. По сравнению с химически полученными ПАВ, биоПАВ имеют лучшую совместимость с окружающей средой, высокое пенообразование,

селективность и специфическую активность при повышенных температурах, pH и солености. Помимо этого, они биodeградебельны и нетоксичны (Петриков и др., 2017; Marchant, Banat, 2012; Kapadia, Yagnik, 2013; Santos et al., 2013; Sarubbo et al., 2015; Shah et al., 2016; Sharma, Oberoi, 2017; Drakontis, Amin, 2020).

Анализ типов биоПАВ (табл. 1.15), синтезируемых разными микроорганизмами показал наличие многочисленных штаммов бактерий, дрожжей, микромицетов, способных продуцировать низкомолекулярные и высокомолекулярные биоПАВ. Экологическое значение микроорганизмов, как входящих в состав биопрепаратов, так и аборигенной микрофлоры в качестве деструкторов углеводов нефти, очень велико, так как известно, что более высокоорганизованные формы организмов не могут осуществлять полную нефтедеструкцию и биоконверсию. Микроорганизмы обладают свойством избирательного отношения к различным углеводородам. Показано, что одни микроорганизмы расщепляют ароматические углеводороды интенсивнее, чем предельные, другие, наоборот (Делеган и др., 2016; Рябцева и др., 2016; Бузолева и др., 2017).

Таблица 1.15 – Типы биоПАВ, характерные для разных таксономических групп микроорганизмов

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Рамнолипиды	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Ji et al., 2016)	Дизель показал самую высокую активность эмульгирования среди тестируемых субстратов в диапазоне от 55,56 % до 60 %. Активность вытеснения нефти соответствовала концентрации рамнолипидов со стабильностью до 120 °С (в течение 60 мин). Максимальная продукция рамнолипидов была достигнута через 120 часов – 3,18 г/л
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (номер доступа в NCBI GenBank GQ865644) Sharma et al., 2016	Максимальная продукция биосурфактанта, зарегистрированная <i>P. aeruginosa</i> DSVP20, составила 6,7 г/л через 72 часа при 150 об./мин и температуре 30 °С. Исследования биоремедиации с использованием очищенного биоповерхностно-активного вещества показали, что <i>P. aeruginosa</i> DSVP20 обладает способностью разлагать эйкозан (97 %), пристан (75 %) и флуорантен (47 %). Результаты этого исследования показали, что <i>P. aeruginosa</i> DSVP20 и/или биосурфактант, продуцируемый этим изолятом, могут играть потенциальную роль в биоремедиации почвы, загрязненной нефтяными углеводородами и флуорантеном (47 %) при исследовании в разные промежутки времени в течение 7 дней.

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы- продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Рамнолипиды	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MM1011 Amani et al., 2013	Полученная смесь рамнолипидов была способна снизить поверхностное и межфазное натяжение воды до 26 и 2 мН/м соответственно. Критическая концентрация мицелл составляла 120 мг/л. Максимальная продукция рамнолипидов достигала примерно 0,7 г/л во встряхиваемой колбе. Выход рамнолипида на биомассу, рамнолипида на подсолнечное масло и биомассу на подсолнечное масло для встряхиваемой колбы были получены примерно 0,01, 0,0035 и 0,035 г/г, соответственно. При 120 мг/л рамнолипида 27 % исходной нефти было извлечено после заводнения.
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> и <i>Enterobacter asburiae</i> Hořková et al., 2013	Среды, различающихся по источникам углерода (подсолнечное масло, глицерин и цитрат натрия), азота (ионы аммония, нитрат) и фосфора (общее содержание), были протестированы для получения увеличенного продуцирования рамнолипидов. Лучший выход (0,56 г/л) был получен при использовании нитрата в качестве источника азота. Оба штамма продуцировали рамнолипиды, которые проявляли эмульгирующую активность с ароматическими и алифатическими углеводородами и некоторыми растительными маслами.

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Трегалолипиды	Биопрепарат «МикроБак» (<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Rhodococcus</i> sp. X5, <i>Rhodococcus</i> sp. S26) (Филонов, 2016).	Биопрепарат «МикроБАК» научно-обоснован, исследован на опытно промышленных участках в условиях холодного и умеренного климата, производит гликолипиды (сукциноилтрегалолипиды.)
	<i>Rhodococcus</i> PML026 White et al., 2013	Новая морская бактерия продуцирует биосурфактант в присутствии гидрофобного субстрата (подсолнечного масла). Очищенный трехалолипид способен снижать поверхностное натяжение воды до 29 мН/м при критической мицеллярной концентрации (КМЦ) с 250 мг/л, и получали эмульсии, которые были стабильны в широком диапазоне условий (рН 2-10, температуры 20-100 °С и концентрации NaCl 5–25 % мас./Об.).

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Трегалолипиды	<p><i>Tsukamurella pseudospumae</i> <i>T. spumae</i> Kugler et al., 2015</p>	<p>Экстракты очищенных соединений отличаются по структуре и эксплуатационным характеристикам от других биосурфактантов, описанных в их семействе. Спектроскопический анализ с помощью инфракрасного и ядерного магнитного резонанса выявил присутствие ароматических фрагментов в полученном поверхностно-активном веществе, которые на сегодняшний день известны только в фенольных гликолипидах некоторых микобактерий.</p>
Софоролипиды	<p><i>Candida bombicola</i> ATCC 22214 Elshafie et al., 2015</p>	<p>Производственные среды были протестированы с различными источниками углерода: глюкоза (2 % мас./об.), кукурузное масло (10 % об./об). Среда, содержащая как глюкозу, так и кукурузное масло, давала лучшую продукцию биосурфактанта и снижала как ST, так и IFT до 28,56 + 0,42 мН/м и 2,13 + 0,09 мН/м соответственно в течение 72 часов. Полученный биосурфактант был достаточно стабильным при солености 13–15 %, диапазоне pH 2–12, и при температуре до 100 °С. Также были получены стабильные эмульсии (% E24) с различными углеводородами (пентан, гексан, гептан, тридекан, тетрадекан, гексадекан, 1-метилнафталин, 2,2,4,4,6,8-гептаметилнонан, легкая и тяжелая нефть).</p>

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Софоролипиды	<i>Janthinobacterium</i> , <i>Psychrobacter</i> и <i>Serratia</i> Trudgeon et al., 2020	Адаптированные к холоду бактериальные изоляты из Антарктиды исследовали на их способность продуцировать биосурфактанты. Организмы могли расти на дизельном топливе, моторном масле и сырой нефти при 4 °С. Активность теста с индексом эмульсии (E ₂₄) варьировала от 36,4 до 66,7 %. Испытания на вытеснение нефти были сопоставимы с 0,1–1,0 % растворами додецилсульфата натрия.
Маннозилэритролипиды (МЭЛ)	<i>Pseudozyma antarctica</i> T-34 Wada et al., 2020	Метаболизм <i>P. antarctica</i> T-34 в масляных условиях способствует утилизации масла и выработке внеклеточного гликолипида.
Липопептиды	<i>B. subtilis</i> SPB1 Mnif et al., 2014	Окисление молекул углеводов керосина и дизельного топлива.

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Липопептиды	<i>B. subtilis</i> Zhu Z. et al., 2016	Субстратом для максимального выхода БиоПАВ является глицерин и дрожжевой экстракт. <i>B. subtilis</i> снижает пов. Натяжение до 27 мН/м, окисляет НП в почве до 58-65 %
	<i>Achromobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Lysinibacillus</i> , <i>Ochrobactrum</i> и <i>Pseudomonas</i> Joy et al., 2017b	Продуцирование штаммами <i>Achromobacter</i> sp. PS1, <i>Bacillus</i> sp. SLDB1 гликолипидов, штаммами <i>Ochrobactrum</i> sp. GREW1 и <i>Bacillus</i> sp. SB2 – липопептидов. Культура <i>Achromobacter</i> sp. PS1 высокоэффективна по отношению к сырой нефти . Эффективность очистки 70- 78 %

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Липопептиды	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> CN5 (Bezza, Chirwa, 2017).	В течение 24 суток липопептид при содержании пирена в среде – 600 и 300 мг/л разрушает пирен на 83,5 и 67 % соответственно.
	<i>Ochrobactrum</i> sp. CN3 Bezza et al., 2015; Bezza, 2016	<i>Ochrobactrum</i> sp. CN3 термотолерантен, галотолерантен, устойчив в условиях высокощелочной среды. В водной среде нефтяного шламонакопителя (4 % об. /об.) штамм окисляет 40 % гидрофобных длинноцепочных алифатических и полициклических углеводов
	<i>Rhodococcus</i> sp. ADL36 Habib et al., 2020	Максимальный индекс эмульгирования при 45 % и способность снижать поверхностное натяжение воды до <30 мН/м. Оценка бесклеточного супернатанта продемонстрировала его высокую стабильность в зависимости от температуры, pH и градиента солености. На основании положительной взаимосвязи между оценкой содержания макромолекул и инфракрасным анализом синтезированный экстрагированный биосурфактант был классифицирован как липопептид.

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Жирные кислоты	<i>Rhodococcus erythropolis</i> Афанасьева и др., 2019; Zdarta et al., 2017; Gutiérrez-Chávez et al., 2021	При росте на глюкозе бактерии накапливают большее количество липидов в клетках, и жирнокислотный состав более разнообразен, чем при росте на гексадекане. При росте на гидрофобном субстрате в липидах преобладают две кислоты (октановая и декановая), которые входят в состав продуцируемых данными бактериями биосурфактантов.
Триглицериды	<i>Norcadia erythropolis</i> ATCC 4277 Yao et al., 2021	Жирные кислоты, выделенные из культуры, выращенной на гексадекане, имели углеродный скелет той же длины, что и субстрат, с 70 % компонента в качестве насыщенной кислоты и 30 % в качестве мононенасыщенного гомолога. При выделении из керосиновой культуры жирные кислоты состояли из ряда гомологов от C (18) до C (20), включая кислоты с разветвленной цепью и ненасыщенные кислоты, что отражает распределение изомеров с разветвленной цепью в субстрате.

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Низкомолекулярные БиоПАВ		
Флаволипиды	<i>Flavobacterium</i> Chen et al., 2016	Демонстрируют свойства, включая присутствие холодноактивных ферментов, биосурфактантов, а также биологической активности, например, альгицидной активности.
Фосфолипиды	<i>Klebsiella pneumoniae</i> IVN51 Nwaguma et al., 2016	Высокая активность биосурфактанта с максимальным значением E24 60 % по сравнению с E24 70% для додецилсульфата натрия. Кроме того, биосурфактант показал эмульгирующую активность в отношении следующих углеводов: бензина, керосина, ксилола, толуола и дизельного топлива.
	<i>Rodococcus equi</i> <i>Bacillus methylotrophicus</i> Moussa, Abdul Azeiz, 2013	Бактериальные изоляты показали биосурфактантную активность как из соевого масла, так и из бензина. Продукция биосурфактанта составляла 7,3 и 1,5 г/л для <i>R. equi</i> и <i>B. methylotrophicus</i> соответственно. Максимальный E24 (56 % и 59,09 для биосурфактантов соевого масла и бензина, соответственно) был получен при pH 2. Биосурфактанты показали хорошую стабильность при температуре до 121 °C. Максимальное значение E24 для биосурфактанта <i>B. methylotrophicus</i> (54,16 %) было получено при 50 ° C, тогда как оно составляло 55,55 % для биоповерхностно-активного вещества <i>R. equi</i> при температуре 100 °C.

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Высокомолекулярные БиоПАВ		
Биоэмульгаторы Гликопротеины : Аласан Эмульсан	<i>Acinetobacter</i> sp. Ab9-ES <i>Acinetobacter</i> sp. Ab33-ESr Adetunji, Olaniran, 2019	Максимальная эмульгирующая активность (83,8 % и 80,8 %) была зарегистрирована для штаммов Ab9-ES и Ab33-ES соответственно. Выходы биоэмульгаторов 4,52 г/л и 4,31 г/л были получены из штаммов Ab9-ES (XB9) и Ab33-ES (YB33), соответственно. Метод FTIR выявил гликопротеиновую природу биоэмульгаторов. Биоэмульгаторы образуют стабильные эмульсии только в присутствии пищевых масел. Максимальная эмульгирующая активность 79,6 % (XB9) и 67,9 % (YB33) была зафиксирована в присутствии подсолнечного масла. Было обнаружено, что биоэмульгаторы стабильны в широком диапазоне температур (4–121 °C), умеренном pH (5,0–10,0) и солености (1–6 %). К тому же, биоэмульгатор XB9 показал максимальную эмульгирующую активность (77,3 %, 74,5 % и 74,9 %) при оптимальной температуре (50 °C), pH (7,0) и концентрации NaCl (3 %) соответственно. Напротив, YB33 продемонстрировал самую высокую активность (73,6 %, 72 % и 61,2 %) в оптимальных условиях: 70 °C, pH 7,0 и концентрация NaCl 5 %, соответственно.

Продолжение таблицы 1.15

Типы БиоПАВ	Микроорганизмы-продуценты	Характеристика
Высокомолекулярные БиоПАВ		
Биоэмульгаторы Полисахариды и липопротеины	<i>Halomonas</i> sp. MCTG39a Gutierrez et al., 2020	Высокомолекулярный (~ 261 000 г/моль) гликопротеин, состоящим из углеводов (17,2 %) и белка (36,4 %), проявил высокую эмульгирующую активность в отношении ряда масляных субстратов, включая алифатические соединения с прямой цепью, моно- и алкилароматические соединения и циклопарафины.

Консорциум симбиотических микроорганизмов приводит к синергетическому эффекту, а следовательно к конструированию наиболее эффективного биопрепарата.

Наиболее распространенными считаются бактериальные препараты, как моно-, так и полибактериальные (Рогозина и др., 2010), например «ГлаукОйл», Деградойл, Валентис, Эконадин, Родер, НХ7, Экойл, Фэжел-Био, Лестан, а также бактериально-дрожжевые биопрепараты – Универсал, Деворойл, Олеворин, Биоприн.

Кроме того, разработаны научные основы интенсивных технологий ремедиации водных и почвенных экосистем, нарушенных антропогенным воздействием, в частности нефтью и продуктами ее переработки, с помощью интродукции в загрязненные экосистемы ремедиационных альго-бактериальных ассоциаций (Bakina et al., 2021).

Биопрепараты, в состав которых входят микроводоросли могут использоваться в экстремальных условиях среды, так как лучше адаптируются и имеют широкие экологические возможности.

Культуры водорослей сохраняют симбиотические отношения с бактериями (Park et al., 2008; Radice et al., 2023). Молекулярный кислород от альгофотосинтеза используется бактериями в качестве акцептора электронов для окисления органического вещества. Углекислый газ от бактериальной минерализации завершает фотосинтетический цикл. Также показано, что сочетания водорослей и бактерий значительно повышают устойчивость фототрофов к загрязнениям. Присутствие алканотрофных бактерий восстанавливает размножение чувствительных к мазуту штаммов и стимулирует клеточный рост толерантных водорослей (Mahdavi et al., 2015; Yong et al., 2021). Например, Ashwaniy et al. обнаружено, что микроводоросли, выращенные в сточных водах нефтеперерабатывающего завода (PRE), могут снижать концентрацию ХПК, 81% БПК, 61% сульфидов, 61% TSS на 70%. 67% фосфора и TDS и могут выступать в качестве субстрата для роста бактерий в микробной опреснительной камере

(MDC) допроизводство чистой энергии (Ashwaniy et al., 2020). Das et al. (2014) обнаружено, что способность *Хлорелла* spp. для удаления различных загрязняющих веществ поддерживался рост аэробных бактерий, присутствующих в нестерилизованных предварительно очищенных водах, образующихся при переработке нефти (PPW). Кроме того, бактерии сделали азот более доступным, способствуя росту биомассы микроводорослей (Ramadass et al., 2017b).

Принципиально новый подход в создании новой методологии в разработке полимикробных препаратов в комплексных биотехнологиях – это конструирование симбиотических эффективных штаммов бактерий, дрожжей, нефтедеструкторов с микроводорослями, устойчивых к токсичным загрязнениям (Chen Z. et al., 2017; He et al., 2017; Ismail et al., 2017; Church et al., 2018; Fouilland et al., 2018; Rahman et al., 2020).

1.5.3 Иммобилизация микроорганизмов на носителях

Перспективным направлением в экологической биотехнологии, решающей задачи ускоренного восстановления земель в условиях Крайнего Севера является применение комбинированных препаратов, основанных на процессах сорбции НП на носитель и их деструкции иммобилизованными микроорганизмами (Ali et al., 2018; Vidal, Moraes, 2018; Bashkin et al., 2022).

Лиофильная сушка биомассы препарата имеет ряд недостатков: частичное разрушение клеток, слив верхнего слоя жидкости, содержащего активные внеклеточные ферменты, которые более стрессоустойчивы и когда микробный пул подавлен, именно ферменты активизируют окислительную нефтедеструкцию (Обзор рынка..., 2008; Щемелинина и др., 2013).

Технологии очистки почвенных и водных объектов с применением сорбентов широко практикуются во всем мире, что доказывает их экономическую и экологическую целесообразность и эффективность наравне с другими способами очистки. Это подтверждается использованием в технологиях очистки более трех сотен различных сорбентов (Демина, 2011; Полникова, 2014; Bhardwaj,

Bhaskarwar, 2018; Braghiroli et al., 2018; Saleem et al., 2018; Doshi et al., 2018; Azmi et al., 2022; Kegere et al., 2022; Yang et al., 2023), которые подразделяют на природные неорганические, природные органические и органоминеральные, а также синтетические.

Природные органические, полученные из обмола проса и биомассы ряски (Патент № 2708860), из растительной массы тростника, измельченной до размеров частиц 5-10 мм и подвергнутой формованию с усилием 80 кН гранулированного сорбента (Патент № 2625107). «Cleanspills» SIAM GLOBAL GROUP (Таиланд) – экологически чистый продукт изготовлен из стружки скорлупы кокосового ореха (What is...).

Разработаны органоминеральные на основе гранулированной композиции торфо-диатомитового мелиоранта (Патент № 2718815), гидрофобный сорбент (на основе торфа) с иммобилизованными микроорганизмами (Bashkin et al., 2022). Осуществляют применение отходов шерсти как сорбента нефтепродуктов (Патент № 2656373). Сорбент гранулированный для очистки водной и твердой поверхности от нефтепродуктов следующего состава: древесные отходы в виде опилок, стружки, пыли или угольных и коксовых отходов в виде шлама, мелочи, пыли со связующим, представляющим собой навоз, или помет, или активный ил, взятых в исходном состоянии или после анаэробного сбраживания, и с магнетитом. Производят карбонизацию гранул при 400-800 °С. Нефтеемкость равна 5,5 г/г (Патент № 2665440).

Исследованы синтетические сорбенты (Патент № 2581402; Askin et al., 2021; Kim et al., 2021; Uzunok et al., 2023). Известен способ получения сорбента на основе пористых материалов для очистки воды от нефти и нефтепродуктов. В составе сорбента, мас. %: порошок стеклобоя с размером частиц до 100 мкм – 55-57, жидкое стекло с модулем 3,0 – 33-35, раствор гидроксида натрия концентрацией 11,8 – 8,6-8,8, алюминиевая пудра – 1,2-1,4. Емкость сорбции нефтепродуктов предложенного сорбента составляет 110-120 % (Патент № 2737728).

Магнитный сорбент для сбора нефти, масел и нефтепродуктов предназначен для удаления нефти, масел и нефтепродуктов с поверхности воды и поверхностного слоя почвы или грунта. В состав сорбента входят магнитный наполнитель в виде металлического порошка из оксидов Fe_3O_4 с размером частиц 5-10 мкм, в количестве 8-12 %, низинный торф в количестве 75-80% и атактический полипропилен в количестве 8-17 % (Патент № 2646084).

В способе получения сорбента для очистки водной поверхности от нефти и нефтепродуктов используют волокнистый целлюлозный материал с предварительной вакуумной дегазацией, обезвоживанием и пропиткой в вакууме подготовленным раствором тетрахлорэтилена с 0,4-0,5 мас.% содержанием окисленного атактического полипропилена (Патент № 2638855), используют нетканый сорбент (Kovačević et al., 2023).

К природным неорганическим сорбентам относят различные виды глин, диатомитовые породы, песок, цеолиты, туфы, пемзу и т.п. (Фокина, Миазин, 2019; Мейрамкулова и др., 2023; Vandura et al., 2017; Yang et al., 2023). Получены угольно-фторопластовые сорбенты, обладающие высокой скоростью фильтрации и степенью очистки вод от углеводородов и органических загрязнителей (Патент № 2619322).

Среди приоритетных видов загрязняющих веществ минералы хорошо сорбируют ионы тяжелых металлов, радионуклиды, ионы аммония (Нагорных и др., 2014; Патент № 2524111). Известен способ очистки ливневых и талых вод с территорий городов и промышленных предприятий от взвешенных веществ, нефтепродуктов, органических веществ и ионов тяжелых металлов с помощью минералов – цеолитов (Патент № 2540620). Использование адсорбционных фильтров на основе минералов также показало себя как перспективный и дешевый метод очистки воды от микробиологических загрязнений (Плотников и др., 2017; Youssef et al., 2016, Tosheva et al., 2017).

В таблице 1.16 представлены сорбенты, которые предлагаются предприятиями для целевого использования.

Таблица 1.16 – Сорбенты целевого назначения

Сорбент	Назначение	Ссылка на источник
Полимерный сорбент «Унисорб» Уральского промышленного холдинга АМК-Групп	Для сбора различных нефтепродуктов с водных и твердых поверхностей	Сорбент «Унисорб»..., 2013
Органоминеральный сорбент нефтепродуктов «ЭКОЛАН» ООО «ТИЭТ»	Применяется для быстрой и эффективной ликвидации аварийных разливов нефти и нефтепродуктов с поверхности открытых водоемов, почвы, грунтов, асфальта, бетона в широком диапазоне температур с последующим биоразложением (биodeградацией) при захоронении в почву и превращением в гумус.	Органоминеральный ..., 2018
Торфяной сорбент «СОНЕТ-СОРБ» ООО «ТИЭТ»	Для экспресс поглощения и фиксации нефти, нефтепродуктов, масел, мазута и других жидких неполярных загрязнителей углеводородной природы.	
Биоразлагаемый сорбент OCLANSORB "HI POINT INDUSTRIES" Канада.	Экологически безопасный органический, нетоксичный, неабразивный сорбент обладающий способностью биологического разложения поглощенных нефтепродуктов. Мгновенно впитывает и инкапсулирует (заключает в капсулы) поглощенные углеводороды, а также подавляет летучие и горючие пары.	

Продолжение таблицы 1.16

Сорбент	Назначение	Ссылка на источник
Торфоминеральный Сорбонафт ВД ЗАО «ЦЭИ «Пресс-Торф»	Для утилизации нефти и нефтепродуктов на воде, почве и твердых поверхностях, эффективен при любых погодных условиях и низких отрицательных температурах. Обладая гидрофобными свойствами, сорбируя загрязнения с водной поверхности, остается на плаву длительное время, что обеспечивает удобство его последующего сбора	Универсальный Сорбонафт..., 2020
Торфяной сорбент (из мха сфагнума) «Ньюсорб» ООО «ЛАРН 32»	Средство ликвидации загрязнений окружающей среды нефтью и нефтепродуктами	Сорбент «Ньюсорб»..., 2020
Полимерный сорбент «Униполимер» ООО НПП «Сибэкосорб СФУ»	Для очистки воды и грунта от нефти и нефтепродуктов	Сорбент «Униполимер-М», 2020
ElcoSorb	Впитывает углеводороды (нефть и все её производные) и органические загрязнители и инкапсулирует их, применяется также для сбора горячего смазочного масла на буровых станках и фреззах	Инновационный абсорбент..., 2011

Сорбенты, эмульгируя на себя загрязнители становятся вторичными отходами производства и требуют утилизации, тем самым увеличивая расходы на рекультивационные мероприятия. Сама утилизация может быть не экологична, так как в процессе промывки экстрагентами или выжигания в природу возвращаются очередные отходы (Артюх и др., 2014).

Решением проблемы сохранения жизнеспособности клеток микроорганизмов, а также стимулирующего воздействия (Ерофеевская, 2018) и утилизации сорбирующих материалов может послужить создание биосорбентов посредством иммобилизации микроорганизмов-деструкторов на минералы.

Таким образом, поиск микроорганизмов-нефтедеструкторов, оптимальных носителей-сорбентов для эффективной биорекультивации нефтезагрязненной почвы, очистки водоемов, утилизации отходов и разработка научно-обоснованных технологий – актуальное решение экологической и энергетических проблем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ОБЗОРУ ЛИТЕРАТУРЫ

Крайний Север – это территория, на которой неблагоприятные, а в ряде случаев и экстремальные условия, оказывают негативное воздействие не только на человека и условия его жизни, но и на процессы хозяйственной деятельности. При этом в Арктической зоне России и на российском Севере сконцентрировано 60 % имеющихся в стране запасов нефти и газа, 40 % золота, 90 % хрома и марганца, 47 % платиновых металлов и т. д. Уязвимость северных и арктических экосистем к антропогенной нагрузке обуславливает необходимость разработки эффективных биотехнологий, направленных на ускорение их восстановления. Наиболее актуальными направлениями экологической биотехнологии являются биоремедиация нефтезагрязненных территорий и очистка водоемов от нефти. Кроме того, на специальных складах различных нефтеперерабатывающих заводов только по России накоплены миллионы тонн опасных нефтешламов. К сожалению, эта проблема напрямую ведет к кризису нефтяной отрасли страны, а также возникновению реальной угрозы токсичного загрязнения подземных вод,

рек, морей и почв в зонах складирования отходов, и, в первую очередь, происходит это из-за отсутствия современной технологии переработки и утилизации нефтешламов. Проблема утилизации и переработки нефтешламов является актуальной и острой не только исключительно для нефтяной отрасли, но также и глобальной экологической проблемой всего мира.

Одно из новых направлений утилизации нефтешлама – конверсия в биотопливо. На сегодняшний день зарубежные страны стараются закупать топливо с определенным процентом биодобавок в составе. Поэтому биодизель, полученный путем микробных преобразований нефтешламов, является одним из перспективных экспортных продуктов.

Исходя из вышесказанного, разработка и создание инновационных биопродуктов нетрадиционными методами особо актуальны в области одновременного решения экологических и энергетических задач, что соответствует приоритетному направлению Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, а именно, «Н2. Переход к экологически чистой и ресурсосберегающей энергетике, повышение эффективности добычи и глубокой переработки углеводородного сырья, формирование новых источников, способов транспортировки и хранения энергии».

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Полевой эксперимент с долгосрочным мониторингом ферментативной активности фоновых, нефтезагрязненных и восстанавливающихся почв Крайнего Севера (на примере Усинского района)

2.1.1. Природно-географическая характеристика района и почв исследования

Район исследований расположен в бассейне нижнего и среднего течения р. Колва в Усинско-Колвинском елово-лесотундровом геоботаническом округе в подзонах лесотундры и крайнесеверной тайги Печорско-Уральской подпровинции (Юдин, 1954). Тип климата – умеренно-континентальный. Среднегодовая температура составляет -4°C ; средняя температура января от -18° до -20°C , июля $+14^{\circ}\text{C}$. Снежный покров удерживается 210 дней в году, с третьей декады октября до начала июня (Атлас ..., 1997). Основная часть территории относится к Печоро-Усинскому округу болотно-подзолистых, глееподзолистых, тундрово-болотных и болотных торфяных почв (Атлас почв ..., 2010). Почва участка торфяная и характеризуется кислыми значениями pH ($\text{pH}_{\text{сол.}}$ 4,20–4,80; $\text{pH}_{\text{водн.}}$ 4,35–5,66), влажность почвы после осушения составляла от 65 до 88%, концентрация нефти варьировала от 5 до 450 мг/г (Маганов и др., 2006).

Исследованные почвы относятся к криоморфным, которые образовались в условиях влияния вечной и многолетней мерзлоты. Места их распространения – зоны тундры и тайги. Для этих почв характерно длительный период промерзания до 7,5 (Симонов, 2008). Особенностью тундровых почв является их малая мощность. Содержание перегноя составляет 1–2%, иногда 8%. Минеральных соединений мало (Забоева, 1975). Глубокое промерзание и длительное мерзлое состояние минеральных пород не способствует освоению биотой толщи пород. Биоценологические связи между компонентами экосистемы не только становятся

теснее, но и само жизненное пространство сужается до небольшого по мощности органогенного слоя, в котором практически замыкается биологический оборот органического вещества. Суровый климат является одним из основных факторов, ограничивающих развитие биоты. По уровню продуктивности тундровый биогеоценоз относят к «очень малопродуктивным» (Gabov et al., 2020), а биологический круговорот может быть охарактеризован как застойный с низким потенциалом самоочищения почвы, длительным разложением в ней органических веществ (от 1-2 до 10 и более лет). Органо- (торфянисто-) -аккумулятивный слой слабо связан с минеральной породой, потому что корневая система растительного сообщества (80-90% от общей массы корней, проникающих до 50 см вглубь) сосредоточена в органогенном слое. Такое структурное строение биогеоценотической системы обуславливает очень медленное ее возобновление и высокую чувствительность к малейшему техногенному воздействию (Zahed et al., 2021).

Усинское болото представляет собой систему верхового типа с участками аапа комплексов. Крупнейший торфяник, не имеет аналогов, система топей без леса, обводнен и практически непроеходим. В источниках указывается на присутствии в Усинском болоте свыше 850 озер, отличающихся по размеру и глубине (до 3-4 км в диаметре). Еще одна особенная черта Усинского болота – близкое расположение слоя вечной мерзлоты (40-50 см). В осенний период, при снижении температуры происходит выдавливание грунта из почвы на поверхность до 4 м.

Растительность также отличается заметным разнообразием. В пределах заказника представлены все характерные для северных верховых болот типы экосистем: кочки, гряды, мочажинсы и пр. По топким берегам водоемов доминируют кустарники и травяно-сфагновые сообщества. Мерзлотные бугры уникальны, отличаются формирующими сообщества, в которых наряду с влаголюбивыми болотными растениями и мхами встречаются многочисленные лишайники, предпочитающие более сухие условия (Алексеева, 2014).

2.1.2. Условия проведения эксперимента

Полевой эксперимент был заложен на участке нефтяного разлива № 20 Пермокарбонского месторождения общей площадью около 2 га. Почвы участка торфяные, характеризуется кислыми значениями рН (рН_{сол.} 4,2-4,8; рН_{водн.} 4,3-5,7), мощность торфяной залежи – 1-4 м. Нижележащий слой – сильнооглеенный суглинок. Почвы криоморфные, образуются в условиях влияния вечной и многолетней мерзлоты, находятся в мерзлом состоянии 7-7,5 месяцев. Почва была пропитана нефтью на глубину до 30 см, исходный уровень загрязнения на различных участках в слое 0-20 см варьировал в диапазоне значений от 87 до 468 мг/г. Участок перед закладкой опыта очищали от поверхностного слоя нефти, фрезеровали по промерзшей почве в марте-апреле на глубину 25-30 см. Избыток воды и высачивающуюся из торфяного слоя нефть отводили с помощью дренажных канав. Участок, разделенный на экспериментальные площадки по 0,2 га каждая, был распределен между участниками эксперимента для показательного испытания разработанных ими технологий рекультивации нефтезагрязненных почв с использованием различных препаратов. Испытание было начато в июне 2002 г.

Эксперимент по испытанию различных методов с применением препаратов и без заложили организации с России, Чехии и Франции:

- Томская научно-техническая организация «ПРИБОРСЕРВИС» с методом биоаугментации (биопрепарат «ПЕТРОЛАН»);
- Французская компания «Тоталь» с методом биоаугментации (препарат ИНИПОЛЬ ЕАР 22);
- Сыктывкарский Институт биологии Коми научного центра УрО РАН с методом биоаугментации (биопрепарат «УНИВЕРСАЛ»);
- Санкт-Петербургский научно-технический центр «НИКА» с методом биоаугментации (биопрепарат «ОМУГ»);
- Сыктывкарский Институт биологии Коми научного центра УрО РАН с

методом биоаугментации (биопрепарат «ЛИГНОСОРБЕНТ» с инокулированным на его поверхности биопрепаратом «УНИВЕРСАЛ» и БАГ (биологически-активных гранул);

- Сыктывкарское ФГУП НИПИИ «Комимелиоводхозпроект» с методом агрохимического биостимулирования процессов очищения почв в 2002 году заложен опыт с использованием минерального удобрения, в 2005 на один из фрагментов участка внесены органические удобрения (птичий помет);

- Чешское предприятие «Деконта» с методом биоаугментации (биопрепарат «DECOTAM-3»);

- Московский государственный университет с методом биоаугментации (биопрепарат «РОДЕР»);

- Контроль (самоочищение нефтезагрязненной почвы) (НПЗ);

Содержание нефти в почвах площадок было разным (табл. 7.5).

2.1.3. Характеристика биопрепаратов нефтеокисляющего действия, использованных в полевом эксперименте

1. Биопрепарат «ПЕТРОЛАН». Микроорганизмы, входящие в состав препарата не раскрыты. В экспериментах была использована суспензия препарата в количестве 50 мл/ кг грунта, загрязненного нефтью. Титр – $1,6 \times 10^8$ КОЕ/мл.

2. Препарат «ИНИПОЛЬ ЕАР 22». Состав препарата – коммерческая тайна. Внесение дважды за сезон распылителями мотопомпой.

3. Биопрепарат «УНИВЕРСАЛ». Состав: автохтонные нефтеокисляющие микроорганизмы *Variovorax paradoxus*, *Kurthia sibirica*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodococcus equi*. Препарат выпускается в сухой форме (распылительная сушка биомассы) с титром 10^{10} КОЕ/г. Внесение в соответствии с техническими условиями (10- 30 кг/га). При внесении в почву препарата одновременно вносят комплексное минеральное удобрение (нитроаммофоска, диаммофосфат, аммиачная селитра и др.) исходя из расчета, что однократная доза вносимого удобрения должна соответствовать содержанию, не менее чем: по азоту – 50-60

кг/га, фосфору – 45-50 кг/га, калию – 30-45 кг/га. Перед внесением препарат разводят до титра клеток $5,7 \times 10^8$ КОЕ/мл.

4. Биопрепарат «ОМУГ». Состав: консорциум микроорганизмов *Clavibacter michiganense*, *Bacillus amylolignefaciens*, *Micrococcus varians*, выращенный на подстилочном птичьем помете, при чем в составе $N_{\text{общ}} - 3,6 \%$, $F_{\text{общ}} - 1,6 \%$, $K - 1,0 \%$. Титр клеток – 10^{12} КОЕ/г. Препарат вносят в почву 100 г/м^2 . Перемешивают. Вносят один раз в вегетационный сезон. Через 20 суток после внесения высевают семена.

5. Биопрепарат «ЛИГНОСОРБЕНТ» состоит из препарата «УНИВЕРСАЛ» насорбенте из лигнина и биологически активных гранул в качестве удобрительно-посевного материала, состоящего из компоста с минеральными удобрениями и семенами трав. Гранулы толщина 0,5-1 см и длина 2,0-3,0 см.

6. Агрохимические методы (минеральное удобрение, доломитовая мука)

7. Биопрепарат «ДЕСОТАМ-3». Состав препарата – коммерческая тайна. Титр бактерий $10^8 - 10^9$ КОЕ/мл. Обработать 2 раза в летний сезон. 3600 литров на площадку 0,2 га.

8. Биопрепарат «РОДЕР». Состав: бактерии *Rhodococcus ruber* Ас-1513 D и *Rhodococcus erythropolis* Ас-1514 D. Концентрированная суспензия. Титр клеток 10^{11-12} КОЕ/мл. Разводится 1 кг концентрированной суспензии на 1 м^3 воды. Ту да же необходимо внести нитроаммофоску. В почву вносят методом дождевания 10 мл/м^2 .

2.2. Штаммы микроорганизмов

Штамм *Pseudomonas yamanorum* S1-09.15 выделен из сильно загрязненного грунта, отобранного с участка железнодорожного полотна в г. Сыктывкаре Республики Коми, активизирует биодеструкцию нефти и нефтепродуктов в воде и почве, а также в масляных грунтах на участках железной дороги.

Штамм *Rhodotorula glutinis* 2SR-14 выделен из нефтяного шламонакопителя Усинского района Республики Коми, обладает биодеструкцией тяжелых

парафинов и полиароматических соединений в почве, воде, шламах загрязненных нефтью и нефтепродуктами, способен трансформировать углеводородные ксенобиотики в биомассу липидных метаболитов. Штаммы депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов ИБФМ им. Г. К. Скрыбина РАН г. Пущино. Штамму *Pseudomonas yamanorum* присвоен номер VKM В-3033D. Штамму *Rhodotorula glutinis* присвоен номер VKM Y-2998D.

Штамм *Chlorella vulgaris* выделен из почвы на стоянке оленеводов, Приполярный Урал. Предназначен как дополнительный агент в составе альго-бактериально-дрожжевого консорциума с целью улучшения кислородного режима. Штамм депонирован в коллекции микроводорослей и цианобактерий IPPAS ИФР РАН (УНУ КМЦ IPPAS ИФР РАН). Штамму *Chlorella vulgaris* присвоен номер IPPAS С-2024.

2.3. Питательные среды для культивирования микроорганизмов

Углекислородокисляющие микроорганизмы выделяли на следующих средах:

среда МПА (Muratova et al., 2012), г/л: пептон – 20 г, агар – 20 г, NaCl – 3,0 г, MgSO₄ – 0,5 г, KCl – 1,0.

среда Чапека (Lifshits et al., 2021), г/л: сахароза 30 г, NaNO₃ – 3,0 г; KН₂PO₄ – 1,0 г; KCl – 0,5 г; MgSO₄×5H₂O – 0,5 г; агар микробиологический – 20,0 г.

среда Болда (Daneshvar et al., 2020) (таблица 2.1):

Таблица 2.1 – Состав среды Болда

Компонент	Маточный раствор (г/л дистиллированной воды)	Используемое количество (мл)	Концентрация в конечной среде (моль)
Макроэлементы			
NaNO ₃	25	10	2,94×10 ⁻³
CaCl ₂ ·2H ₂ O	2,5	10	1,70×10 ⁻⁴
MgSO ₄ ·7H ₂ O	7,5	10	3,04×10 ⁻⁴
K ₂ HPO ₄	7,5	10	4,31×10 ⁻⁴
KH ₂ PO ₄	17,5	10	1,29×10 ⁻⁴
NaCl	2,5	10	4,28×10 ⁻⁴
Щелочной раствор ЭДТА		1	
ЭДТА	50		1,71×10 ⁻⁴
КОН	31		5,53×10 ⁻⁴
Кислый раствор железа		1	
FeSO ₄	4,98		1,79×10 ⁻⁵
H ₂ SO ₄		1	
Раствор Бора		1	
H ₃ BO ₃	11,42		1,85×10 ⁻⁴
Раствор микроэлементов		1	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,82		3,07×10 ⁻⁵
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,44		7,28×10 ⁻⁶
MoO ₃	0,71		4,93×10 ⁻⁶
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,57		6,29×10 ⁻⁶
Co (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,49		1,68×10 ⁻⁶

В 936 мл дистиллированной воды необходимо добавить агар – 20 г , по 10 мл раствора каждого из 6 макроэлементов и по 1 мл каждого микроэлементов и по 1 мл каждого раствора микроэлементов, затем автоклавировать не менее 15 мин.

Штаммы выращивали и поддерживали:

- штамм бактерий *Pseudomonas yamanorum* на жидкой и агаризованной среде МПА.

- штамм дрожжей *Rhodotorula glutinis* на жидкой и агаризованной среде Чапека

- штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* на жидкой и агаризованной среде Болда (таблица 6.2) или Тамия, г/л (KNO₃ – 5.0 г, MgSO₄×7H₂O – 2.5 г, KH₂PO₄×3H₂O – 1.25 г, FeSO₄ – 0.003 г) (Zayadan et al., 2017).

Рекомендуемые метод / условия сохранения: длительное хранение в

лиофилизированной форме в плотно запаянных стеклянных ампулах. Кратковременное хранение (для подготовки биомассы с целевым использованием) - периодические пересевы - 1 раз в 2 месяца с хранением выросшей чистой культуры на скошенном агаре на среде МПА, на чашках Петри при $t = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.4. Скрининг микроорганизмов – нефтеструктуров

Угледородокисляющие микроорганизмы выделяли методом накопительных культур (Veldkamp, 1970).

Для выделения УОМ 1 г грунта из нефтяного шламонакопителя г. Усинска Республики Коми, помещали в колбы (объем 250 мл) со 100 мл жидкой минеральной среды Чапека. В качестве единственного источника углерода и энергии добавляли нефть в количестве 0,5-1% (объем.). Инкубирование проводили в лабораторном шейкере S-3L при температуре 20-23 $^{\circ}\text{C}$ и 180 об/мин в течение 1 часа. Штаммы УОМ выделяли из накопительных культур на агаризованной минеральной среде Чапека. Культивирование микроорганизмов в чашках Петри осуществляли при температуре 24-26 $^{\circ}\text{C}$. Изолирование получившихся колоний проводили по морфолого-физиологическим признакам. Чистоту выделенных культур проверяли общепринятыми методами, такими как микроскопический контроль и посев на питательный агар.

Для выделения УОМ: 1 г грунта железнодорожного полотна г. Сыктывкара Республики Коми отмеряли на весах, вносили в минеральную жидкую среду (мясо-пептонный агар) – 100 мл. Добавляли 0.5-1% нефти. Аэрировали колбу на орбитальном шейкере при комнатной температуре 180-220 оборотов в минуту в течение 60 минут. Рассев осуществляли на твердые питательные среды МПА. Изолирование получившихся колоний проводили по морфолого-физиологическим признакам. Чистоту выделенных культур проверяли общепринятыми методами, такими как микроскопический контроль и посев на питательный агар.

Предварительную идентификацию чистых культур микроорганизмов проводили по культурально-морфологическим, физиолого-биохимическим

признакам, используя общепринятые руководства (Hirsch et al., 2004; Gudiña et al., 2012; Pessoa et al., 2019; Adetunji et al., 2021).

2.5. Идентификация штаммов микроорганизмов молекулярногенетическими методами

2.5.1. Штамм *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D

Для проверки исследуемого штамма на чистоту проведен рассев на питательные среды: №1 ГРМ, Кинг В, ИБФМ в чашках Петри с целью получения изолированных колоний.

Выделение ДНК исследуемого штамма проведено методом описанным в Current protocols in Molecular Biolodgy (Ausubel et al., 2010).

ПЦР продукт получен на приборе GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США), с использованием универсальных праймеров 27f, 1525, Up1F и UP2R.

Определение нуклеотидных последовательностей генов 16S rRNA и gyrB проведено с помощью набора реактивов BigDye® Terminator v3.1 с праймерами 907r, 1525r, Up1S и последующим анализом реакции на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer.

Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 16S rRNA и gyrB выполнен в программе BLAST (NCBI – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Определение филогенетического положения штамма и процента сходства проведено с использованием инструментов сайта EzTaxon-e (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>) (Kim et al., 2012) и программы MEGA 6.

2.5.2. Штамм *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D

Выделение ДНК проводили с применением стеклянной дроби (300-500 мкм диаметром) и лизирующего буфера (TrisBase 50mM, NaCl 250mM, ЭДТА 50mM, SDS 0.3%, pH 8).

Для амплификации региона рДНК, содержащего ITS регионы и D1-D2-D3 домены большой субъединицы рДНК, использовали праймеры ITS1f (5'-СТТ GGT

CAT TTA GAG GAA GTA) и LR5 (5'-TCC TGA GGG AAA CTT CG). Для амплификации региона рДНК малой субъединицы 18S использовали праймеры NS1 (5'-GTA GTC ATA TGC TTG TCT C) и NS8 (5'-TCC GCA GGT TCA CCT ACG GA).

Для амплификации ДНК последовательности гена фактора элонгации транскрипции 1 α (*tef-1 α*) применяли праймеры EF1-983f (5'- GCY CCY GGH CAY CGT GAY TTY AT) и EF1-2218r (5'-ATG ACA CCR ACR GCR ACR GTY TG). Для секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК использовали праймеры ITS5, LR5, NS1, NS8, EF-983f и EF-2218r. Секвенирование ДНК проводили с помощью набора реактивов BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», USA) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer.

Амплификация ДНК последовательности гена субъединицы RPB1 РНК-полимеразы II была проведена с использованием универсальных праймеров RPB1-Af (5'-GAR TGY CCD GGD CAY TTY GG) и RPB1-Cr (5'-CCN GCD ATN TCR TTR TCC ATR TA), но наработка ПЦР-продукта отсутствовала. Поэтому для дополнительной генетической характеристики штамма был использован регион малой субъединицы 18S рДНК.

Для сравнения нуклеотидных последовательностей регионов рДНК и гена *tef-1 α* , полученных после секвенирования, использовали данные для типовых штаммов из клада *Rhodotorula glutinis* по данным последней ревизии данного рода (Wang et al., 2015), эти же данные были использованы для филогенетического анализа.

Филогенетический анализ (Maximum Likelihood) на основе данных нуклеотидных последовательностей регионов 18S, ITS1-5.8S-ITS2, D1-D2-D3 доменов 26S рДНК, а также гена *tef-1 α* проводился с использованием программы MEGA v.6 (Tamura et al., 2013). GTR модель с гамма распределением и инвариантными сайтами (G+I) использовалась в качестве лучшей модели нуклеотидных замен. Множественное выравнивание последовательностей было

выполнено в программе MAFFT v.7 (Kato et al., 2019).

2.6. Извлечение липидов из биомассы

Липиды извлекали путем трехкратной экстракции гексаном водной суспензии микросом при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Экстракты объединяли, фильтровали через складчатый фильтр с безводным сульфатом натрия и упаривали в вакууме при температуре не выше 40°C до полного удаления растворителя. Метилловые эфиры ЖК получали по методу К.М. Синяка с соавторами (Патент № 542932).

2.7. Идентификация жирных кислот

Идентификацию жирных кислот проводили в ЦКП «Хроматография» Института биологии Коми НЦ УрО РАН на хроматомасс-спектрометре Trace DSQ («Thermo», США) в режиме полного ионного тока (энергия электронов 70 эВ). Условия определения: программирование температуры термостата колонок 110 – 6° С/мин – 350 °С, кварцевая капиллярная колонка TR-1 («Thermo») – 30 м × 0,32 мм, толщина пленки (полидиметилсилоксан) – 0,25 мкм; газноситель – гелий (99,99 %), скорость потока через колонку – 0,6 см³/мин, деление потока – 1 : 50; температура испарителя 280 °С; интерфейса 250 °С; детектора 200 °С. Интерпретацию масс-спектров проводили с использованием программного обеспечения Xcalibur Data System (ver. 1.4) и библиотеки масс-спектров NIST 05 (ver. 2.0). Количественное содержание кислот оценивали методом внутреннего стандарта (внутренний стандарт – *n*-гексадекан, 0,05 мг/см³) с применением стандартных образцов метиловых эфиров карбоновых кислот фирмы “Supelco” (содержание основного вещества не менее 99 %).

2.8. Расчет характеристик прекурсора биодизеля

Количественное определение цетанового, йодного числа, теплопроводности, вязкости и плотности биодизеля проводили по составу и

содержанию ЖК с использованием эмпирических формул Talebi et al. (2014).

2.9. Исследования ферментативной активности

Активность ферментов азотного, углеводного, фосфорного, липидного обмена, окислительно-восстановительных ферментов почвы определяли по методам, описанным Ф.Х.Хазиевым, В.Ф. Купревичем и Т.А. Щербаковой (Купревич, Щербакова, 1966; Хазиев, 2005):

1. Азотного обмена:

- *протеаз*: субстрат – 2% раствор желатины, время инкубации 20 часов, температура инкубации 37°C; активность выражали миллиграммах амминного азота на 1 г почвы за 20 часов;

- *уреаз*: субстрат – 2% раствор мочевины, время инкубации 3 часа, температура – 37°C; активность выражали в миллиграммах NH_4 на 1 г почвы за 3 часа;

2. Углеводного обмена:

- *инвертаз*: субстрат – 8% раствор сахарозы, время икубации 4 часа, температура 37°C; активность выражали в мг глюкозы на 1 г почвы;

3. Оксидоредуктаз:

- *каталаз*: субстрат – 0,3% раствор перекиси водорода, время икубации 20 минут, температура 30°C; активность выражали в мл KMnO_4 на 1 г почвы за 20 минут;

- *дегидрогеназ*: субстрат – 0,5% раствор тритетразолия хлорида, время инкубации 24 часа, температура 30°C; активность выражали в миллиграммах формазана на 1 г почвы;

- *сульфатредуктаз*: субстрат – 0,5н Na_2SO_4 , время инкубации 3 часа, температура 30°C; активность выражали в миллиграммах восстановленного SO_4^{2-} на 1 г почвы;

- *сульфитредуктаз*: субстрат – 0,5н Na_2SO_3 , время инкубации 24 часа, температура 30°C; активность выражали в миллиграммах восстановленного SO_3^{2-}

на 1 г почвы;

- *нитратредуктаз*: субстрат– 1% KNO₃, время инкубации 24 часа, температура 30°C; активность выражали в миллиграммах восстановленного NO₃⁻ на 1 г почвы;

4. Фосфогидралаз:

- *фосфатаз*: субстрат 1% раствор фенолфталеинфосфата натрия, время инкубации 1 час, температура 30°C; активность выражали в миллиграммах P₂O₅ на 10 г почвы за 1 час;

5. Гидролазы эфиров карбоновых кислот:

- *триацилглицерол-липаз*: субстрат подсолнечное масло, время инкубации 72 часа, температура 30°C; активность выражали в миллилитрах 0,1н КОН на 1 г почвы.

Определение дегидрогеназной активности в водных образцах проводилось по методам (Роговская, Оргианская, 1970).

Для сглаживания различий отклика отдельных ферментов и более точного определения направленности процессов рассчитывали показатель среднего геометрического:

$$GMea = \sqrt[3]{Cat \times Deh \times Ure},$$

где *GMea* – среднее геометрическое ферментативной активности; *Cat* – каталазная активность; *Deh* – дегидрогеназная активность; *Ure* – уреазная активность.

2.10. Микробиологические исследования

Определения функционального состояния иммобилизованных на глауконите клеток оценивали по микробиологической активности (Методы ..., 1991; Практикум ..., 2005).

2.11. Количественный химический анализ

Количественный химический анализ почвенных образцов был выполнен в экоаналитической лаборатории Института биологии Коми НЦ УрО РАН, следующими методами:

pH – потенциометрией ПНД Ф 14.1:2:3:4.121-97 (ФР.1.31.2007.03794) (Методика..., 2004), PO_4^{3-} – фотометрией, ПНД Ф 14.1:2:4.248-07 (ФР.1.31.2016.22975) (Методика..., 2016в), нитрат-иона, NO_3^- – фотометрией, ПНД Ф 14.1:2:4.4-95 (ФР.1.31.2013.16009) (Методика..., 2013а), хлорид-иона, Cl – АЭС ИСП, ФР.1.31.2016.23501 (Методика..., 2016б), сульфат-иона, SO_4^{2-} – турбидиметрией, РД 52.24.405-2005 (Методика..., 2005), взвешенных веществ, ВВ – гравиметрией, ПНД Ф 14.1:2:4.254-2009 (ФР.1.31.2013.13901) (Методика..., 2013б), цветность – фотометрией, ПНД Ф 14.1:2:4.207-04 (ФР.1.31.2007.03807) (Методика..., 2007), цинк, свинец – АЭС ИСП ПНД Ф 14.1:2:4.135-98 (ФР.1.31.2000.00132) (Методика..., 2008), нефтепродукты – ПНД Ф 14.1:2:4.128-98 (ФР.1.31.2012.13169) (Методика ..., 2012), АПАВ – ПНД Ф 14.1:2:4.158-2000 (ФР.1.31.2014.17189) (Методика ..., 2000), определение водородного показателя водной вытяжки pH(вод) – потенциометрией ГОСТ 26423-85 (ГОСТ..., 1986а), водородного показателя солевой вытяжки pH(сол.) – потенциометрией ГОСТ 26483-85 (ГОСТ..., 1986е), гидрокарбоната-иона в водной вытяжке – потенциометрией, ГОСТ 26424-85, (ГОСТ..., 1986б), сухого остатка – гравиметрией, ГОСТ 26423-85 (ГОСТ..., 1986а), общего азота, N, углерода (общее содержание), C – газовой хроматографией (Методика..., 2016а), фосфора (подвижные формы), в пересчете на P_2O_5 , калия (подвижные формы), в пересчете на K_2O – фотометрией, ГОСТ 54650-2011(ГОСТ..., 2013), хлорид-иона водорастворимых соединений, Cl – меркуриметрией (Методика..., 2016б), сульфат-иона, SO_4^{2-} – турбидиметрией, ГОСТ 26426-85 (ГОСТ..., 1986в), натрия в водной вытяжке – АЭС ИСП, ГОСТ 26427-85, калия в водной вытяжке (ГОСТ..., 1986г), кальция и магния в водной вытяжке, АЭС ИСП, ГОСТ 26428-85 (ГОСТ..., 1986д), гидролитическую кислотность – потенциометрией, ГОСТ 26212-

91(ГОСТ..., 1993), нефтепродуктов – ПНД Ф 16.1:2.21-98. (Методика..., 1998).

Насыщенность основаниями определяли в %: $V = S \times 100 / \text{ЕКО}$, где S – сумма обменных оснований (Ca и Mg). ГК – гидролитическая кислотность $\text{ЕКО} = S + \text{ГК}$.

2.12. Определение ПАУ

В основу **определения ПАУ** в почве положена методика М 03-04-2002 – измерение массовой доли бенз[а]пирена в пробах почв, грунтов донных отложений и твердых отходов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием анализатора «Флюорат-02» в качестве флуориметрического детектора (Габов и др., 2008).

2.13. Определение эмульгирующей активности

Эмульгирующую активность микроорганизмов по отношению к дизельному топливу определяли методом Д. Купера (Cooper, 1987) с некоторыми модификациями (Purwasena et al., 2019). Культуры выращивали в течение нескольких суток в жидкой питательной среде. Далее культуральную среду смешивали с дизельным топливом марки «Л-0,2-40» в соотношении 3:2, суспензию интенсивно перемешивали на лабораторном встряхивателе при 1000 об/мин на протяжении 20 мин для получения устойчивой эмульсии. После этого пробирки с суспензией оставляли в вертикальном положении при комнатной температуре, эмульгирующую активность рассчитывали, как отношение объемов эмульсии через 24 часа к общему объёму, умноженное на 100 %. Результат выражали в процентах. Стабильность эмульсии определяли, как отношение объемов эмульсии через 48 часов и 24 часа, умноженное на 100 %.

2.14. Токсикологическая оценка микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата

Токсикологическую оценку микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата проводили в рамках договорных работ с «НИЦ Токсикологии

гигиенической регламентации биопрепаратов» – филиале ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (Приложение 5).

Вирулентность и диссеминацию штаммов *R. glutinis* VKM Y-2998D и *P. yamanorum* VKM B-3033D изучали при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении беспородным белым мышам и крысам взвеси суточной агаровой культуры в физиологическом растворе в дозах 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 микробных клеток (мк.кл.) на животное. Контрольным группам животных вводили физиологический раствор. В опыте и контроле использовали по 6 животных на дозу.

Для изучения диссеминации через 30 суток после введения культур микроорганизмов, животных умерщвляли ингаляцией CO_2 и методом отпечатков делали посев из крови и внутренних органов (легких, печени, почек и селезенки) на чашки Петри с агаризованной средой.

Токсичность штаммов оценивали путем внутрибрюшинного введения беспородным белым мышам взвеси микроорганизмов, приготовленной на стерильном физиологическом растворе и инактивированной нагреванием при 70°C в течение 30 минут в дозах 10^8 и 10^9 (мк.кл.) на животное.

Токсигенность микроорганизмов изучали на мышах при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении фильтрата культуральной жидкости после 3-х и 7-ми суток культивирования. Фильтрат 3-х суточной культуральной жидкости вводили по 1,0; 1,6 и 2,0 cm^3 внутрижелудочно; внутрибрюшинно по 0,5; 1,0 и 1,6 cm^3 . Фильтрат 7-ми суточной культуральной жидкости вводили внутрижелудочно по 0,8; 1,4 и 1,8 cm^3 ; внутрибрюшинно по 0,3; 0,8 и 1,4 cm^3 . В случае, когда вводимый объем превышал 1,0 cm^3 , дозу делили пополам и вводили в 2 приема с интервалом в 4 часа. Контрольным животным вводили стерильную питательную среду в таких же объемах.

2.15. Определение фитотоксичности штаммов

Изучение фитотоксичности исследуемых бактериальных штаммов

определяли в эксперименте с семенами кресс-салата (*Lepidium sativum*), горчицы (*Sinapis*), красного клевера (*Trifolium pratense*), овса (*Avena sativa*) с питательными субстратами каждого штамма (*R. glutinis*, *P. yamanorum*, *C. vulgaris*). Культуральную жидкость разливали в стаканчики на 100 мл, где замачивали по 30 семян растений на 24 часа. Для контроля замачивали на то же время в водопроводной воде. Через сутки семена помещали во влажные камеры (чашки Петри с увлажненной ватой, поверх которой находится фильтровальная бумага). Равным количеством водопроводной воды смачивали семена при их подсыхании (Зенова и др., 2002).

2.16. Микроскопирование

Микроскопирование образцов проводили с помощью микроскопа Nikon Eclipse80i при увеличении до $\times 1000$, оборудованного системой дифференциального интерференционного контраста и видеофиксации изображений. Микрофотографии выполнены с помощью камер Nikon Digital Sight Ds – 2Mv (Nikon, Japan).

Для оценки эффективности адсорбционной иммобилизации осуществляли микроскопирование образцов с помощью сканирующего электронного микроскопа VEGA3 TESCAN, $\times 5000$.

2.17. Лабораторные эксперименты по проверке эффективности применения изучаемых штаммов для очистки от загрязнения нефтью и нефтепродуктами

2.17.1. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D

Эксперимент 1.

Готовили мясопептонную питательную среду. Среду в колбе на 250 мл загрязняли (10 %), добавлением 0,5 г сырой нефти или отработанного масла. Вносили суспензию живой культуры 5 см^3 наработанного штамма S1-09.15 (титр

клеток 10^9 КОЕ/дм³). Контрольную колбу микроорганизмами не заражали.

Режим эксперимента: культивирование в течение 7 суток (220 об./мин) при комнатной температуре (23–25 °С). Спустя 7 суток в пробах проводили определение содержания нефтепродуктов.

Эксперимент 2.

На 1000 см³ воды добавляли NaNO₃ – 5,0 г; KH₂PO₄ – 3,0 г; KCl – 0,5 г; MgSO₄×7H₂O – 0,5 г, раствор разливали в 250 см³ колбы по 100 см³, стерилизовали их в течение 20 минут в автоклаве, охлаждали до комнатной температуры, после чего проводили заражение содержимого колбы предварительно приготовленной суспензией живой культуры. В колбы добавили 1 г сырой нефти или отработанного масла и 0,5 см³ наработанного штамма *P. yamanorum* VKM В-3033D (титр клеток 10^{14} КОЕ/дм³). Контрольную колбу микроорганизмами не заражали.

Режим эксперимента: культивирование в течение 14 суток (220 об./мин) при комнатной температуре. Спустя 1 и 14 суток в пробах проводили определение содержания нефтепродуктов (табл.4).

Эксперимент 3.

Грунт, загрязненный маслом, отобранный с железнодорожного полотна вносили суспензию штамма штамма *P. yamanorum* VKM В-3033D (титр клеток 10^{14} КОЕ/дм³) в количестве 25 см³ и перемешивали. Контроль – необработанный нефтезагрязненный песчено гравийный грунт. Содержание нефтепродуктов исследовали через 30 и 90 суток.

2.17.2. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма

***Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D**

Эксперимент.

На 1000 см³ воды добавляли NaNO₃ – 2,0 г; KH₂PO₄ – 1,0 г; KCl – 0,5 г; MgSO₄×7H₂O – 0,5 г, раствор разливали в 250 см³ колбы по 100 см³ стерилизовали их в течение 20 минут в автоклаве, охлаждали до комнатной температуры, после

чего проводили заражение содержимого колбы предварительно приготовленной суспензией живой культуры *R. glutinis* VKM Y-2998D с титром живых клеток 10^9 КОЕ/мл в количестве 5 и $0,5 \text{ см}^3$ на колбу. Контрольную колбу микроорганизмами не заражали. Во все колбы добавляли по 1 г сырой нефти. Режим эксперимента: температура + 23 °С, аэрация на шейкере при 220 об/мин в течение 7 суток.

Массовую концентрацию нефтепродуктов в образцах определяли гравиметрическим методом. Проводили оценку состава ПАУ.

2.18. Оценка биотехнологических свойств симбиотического консорциума

Для изучения углеводородокисляющих свойств консорциума был проведен опыт в присутствии сырой нефти. На 1000 см^3 воды добавляли NaNO_3 – 2,0 г; KH_2PO_4 – 1,0 г; KCl – 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 г. Раствор разливали в 250 см^3 колбы по 100 см^3 стерилизовали их в автоклаве, охлаждали до комнатной температуры, после чего проводили заражение содержимого колбы предварительно приготовленной суспензией консорциума (*C. vulgaris*, *R. glutinis*, *P. yamanorum*) 5 % – 5 см^3 . Варианты проб загрязняли нефтью в количестве 0,1 и 1 г на 100 см^3 . Контрольную колбу микроорганизмами не заражали.

Условия эксперимента: температура + 23 °С. Культивировали в течение 14 суток в статических условиях при суточном освещении. Эксперимент проводили в 3-х повторностях. Массовую концентрацию нефтепродуктов в образцах определяли гравиметрическим методом.

2.19. Биотехнологические свойства альго-бактериально-дрожжевого консорциума от соотношения культур микроорганизмов

Проводилось изучение свойств альго-бактериально-дрожжевого консорциума в зависимости от разного соотношения культур микроорганизмов биопрепарата.

Водопроводную воду стерилизовали в автоклаве при температуре 121°C и атмосферном давлении 2,5 атм., охлаждали до комнатной температуры, разливали в конические колбы на 250 см³ по 100 см³, после чего воду заражали нефтью в количестве 0,5 г сырой нефти и вводили в содержимое колбы предварительно приготовленные суспензии живых культур в соотношении:

- 50% : 50% бактерии *P. yamanorum* : дрожжи *R. glutinis*;
- 60% : 40% бактерии *P. yamanorum* : дрожжи *R. glutinis*;
- 0,1% : 99,9% бактерии *P. yamanorum* : дрожжи *R. glutinis*;
- 99,9% : 0,1% бактерии *P. yamanorum* : дрожжи *R. glutinis*;
- 50% : 50% (бактерии *P. yamanorum*, дрожжи *R. glutinis*): микроводоросли *C. vulgaris*;
- 70% : 30% (бактерии *P. yamanorum*, дрожжи *R. glutinis*): микроводоросли *C. vulgaris*.

2.20. Иммобилизация клеток микроорганизмов на различных носителях

Проведены сравнительные исследования основных научно-технических параметров биосорбентов. Альго-бактериально-дрожжевого консорциум иммобилизовывали на разные носители:

- Обезвоженный осадок активного ила
- Глауконитовый песок (ионосорб);
- Аргиллитовый песок;
- Катионный полиакриламид.

Исследовали срок плавучести на поверхности загрязненной воды, сорбционную нефтеемкость, биодеструктивную активность, биоразлагаемость (Щемелинина и др., 2017, 2018а, 2018б; Tarabukin et al., 2017; Shchemelinina et al., 2019, 2021;).

2.21. Биологическая активность и нефтеокисляющая способность биогеосорбента в зависимости от условий и срока хранения

2.21.1. Дегидрогеназная активность биогеосорбента

Проводили определение дегидрогеназной активности биогеосорбента при разных условиях и с разным сроком хранения:

- Г0 (с момента приготовления – 7 суток. Условия хранения – комнатная температура);
- Г1 (с момента приготовления – 1 год. Условия хранения – от +25 °С до -35 °С);
- Г2 (с момента приготовления – 2 года. Условия хранения – от +25 °С до -35 °С);
- Г3 (с момента приготовления – 1 год. Условия хранения – комнатная температура);
- Г4 (с момента приготовления – 2 года. Условия хранения – комнатная температура) в 5 повторностях.

2.21.2. Нефтеокисляющая способность биогеосорбента

Нефтеокисляющую активность проверяли экспериментально. В стерильную водопроводную воду 50 см³ вносили нефть (55 мг), добавляли биогеосорбенты (Г0, Г1, Г2, Г3, Г4) в количестве 0,5 г. Контролем служили пробы загрязненной нефтью воды с глауконитом и без него. Условия эксперимента: комнатная температура (23-25 °С), естественное освещение, аэрации на шейкере (180 об/мин) в течении 3 суток. Эксперимент проводили в 3-х повторностях.

2.21.3. Микробиологическая активность биогеосорбента

Образцы биогеосорбентов Г0, Г1, Г2, Г3, Г4 по 1 г были внесены в заранее приготовленные стерильные неагаризованные питательные среды МПА, Чапека и Тамия в 50 см³ среды в колбах на 100 см³. Режим культивирования: аэрация на шейкере при 180 об/мин., комнатная температура (23-25 °С), естественное освещение. Контролем был образец со средами с внесением носителя-глауконита

без микроорганизмов. Посев на агаризованные питательные среды МПА, Чапека, Тамия в чашки Петри производился спустя 2, 6, 24, 48 часов, 3 и 5 суток культивирования. В качестве контроля проводили посев с навески глауконита без микроорганизмов.

Подсчет клеток на твердых питательных средах проводили спустя 3 суток.

2.22. Лабораторные эксперименты по проверке эффективности биогеосорбента для очистки водных и почвенных объектов от нефти и нефтепродуктов

2.22.1. Оценка эффективности биогеосорбента при использовании на водных средах

Эксперимент 1.

На 1000 см³ воды добавляли: NaNO₃ – 5,0 г; KН₂PO₄ – 3,0 г; KCl – 0,5 г; MgSO₄×5H₂O – 0,5 г, 100 см³ раствора разливали в колбы объемом 250 см³, автоклавировали в течение 20 минут, охлаждали до комнатной температуры. В колбы добавляли 1 г, 2,5 г, 50 г сырой нефти и 30 г отработанного масла и 1 г биогеосорбента. В качестве контроля служила водная среда с нефтепродуктами и глауконит без микроорганизмов. Режим эксперимента: аэрация на шейкере (220 об./мин) в течение 7 суток при комнатной температуре (23-25 °С), естественном освещении. Спустя 7 суток в образцах проводили определение содержания остаточных нефтепродуктов. Эксперимент проводили в 3-х повторностях.

Эксперимент 2.

В 100 см³ среды Чапека без сахарозы добавляли 0,5 г сырой нефти. Аэрировали на шейкере при 180 об/ мин. в течение 4 суток при комнатной температуре (23-25 °С) и естественном освещении. Воду отфильтровывали.

В колбы на 250 см³ разливали подготовленную загрязненную нефтью воду и добавляли 1 г биогеосорбента. В качестве контрольных образцов использовали загрязненную модельную воду и исходный минеральный носитель без

микроорганизмов – глауконит. Режим эксперимента: аэрация на шейкере (220 об./мин) в течение 4 суток при комнатной температуре (23-25 °С), естественном освещении. Спустя 4 суток в образцах биогеосорбента и отдельно в модельной воде проводили определение содержания остаточных нефтепродуктов для оценки сорбционной и деструктивной активности.

2.22.2. Оценка сорбционных и деструктивных свойств биогеосорбента при использовании на почвенных объектах

2.22.2.1. Оценка использования биогеосорбента в качестве биоремедианта для очистки мелкодисперсного грунта

5 кг мелкодисперсного грунта, образовавшегося в результате очистки моющего раствора при промывке нефтезагрязненных почв и грунтов, и различными добавками к нему помещали в вегетационные сосуды. Вносили биогеосорбент – 10 % от объема грунта. В качестве контроля был мелкодисперсный грунт без добавок. Подкормка образцов грунта минеральными удобрениями (NPK-15) по 0,8 г на сосуд и перемешивание проводилась в середине эксперимента.

Спустя 30 суток от начала эксперимента высеяны травы. Почва в емкостях разделена на 3 части, в каждую из частей посеяны семена трав по 100 шт.: овес, газонная трава, клевер красный.

Отбор проб на определение содержания НП, микробиологическую и ферментативную активность проводили после закладки эксперимента и спустя 30 суток.

2.22.2.2. Изучение эффективности процесса биодеструкции нефтепродуктов в грунте железнодорожного полотна с применением биогеосорбента

Сильно загрязненную отработанным маслом песчано-гравийную смесь (ПГС) отбирали с участка железнодорожного полотна. В образец ПГС массой 500

г вносили биогеосорбент, а также биогеосорбент с минеральными удобрениями (NPK-15) в количестве 2,5 г. Образцы увлажняли и тщательно перемешивали в течение всего эксперимента. В самом начале из общей пробы отбирали образец для определения НП (0 контроль).

Контролем служила загрязненная маслом необработанная ПГС. Отбор проб для аналитических исследований проводили спустя 6 часов, 3 и 30 суток. Эксперимент был поставлен в 3-х повторностях.

2.23. Полевые эксперименты. Альго-бактериально-дрожжевой консорциум и биогеосорбент для трансформации и биоконверсии углеводов

2.23.1. Опытно-промышленные испытания технологии очистки нефтесодержащих сточных вод на очистных сооружениях АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкара с применением альго-бактериально-дрожжевого консорциума

Для проверки возможности оптимизации очистки воды, загрязненной нефтепродуктами (авиационным керосином) (850 мг/дм^3) во второй отсек очистных сооружений ООО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкара была внесена биомасса альго-бактериально-дрожжевого консорциума в количестве 15 дм^3 , из них микроводорослей – 14 дм^3 титром клеток 10^8 кл., бактерий – $0,5 \text{ дм}^3$ титром клеток 10^{12} КОЕ/мл и дрожжей – $0,5 \text{ дм}^3$ титром клеток 10^9 КОЕ/мл. В течение первых 10 минут и трижды за последующие 60 суток осуществляли аэрацию путем перегона воды насосом. Эксперимент проводили в летний период (июль – сентябрь). Были отобраны образцы воды на микроскопический, биохимический и химический анализ до внесения альго-бактериально-дрожжевого консорциума, после аэрации спустя 30 минут и через 60 суток (пробы 1, 2 и 3).

2.23.2. Опытные-промышленные испытания технологии очистки нефтезагрязненной жидкости шламового амбара с применением биогеосорбента

Промышленные испытания биогеосорбента проводили в шламовом амбаре с загрязненной жидкостью, расположенном в Ямало-Ненецком автономном округе, Пуровском районе, в 37 км от г. Новый Уренгой. Территория аварийного разлива нефтегазоконденсатной смеси на 87 км МК «Уренгой-Сургут» УТЖУ ООО «Газпром переработка» расположена на земельных площадях, отведенных во временное пользование (на основании договора аренды лесного участка, в составе земель лесного фонда № 279/Л-13 от 26.11.2013 г.). Земли арендуемого лесного участка площадью 4,8377 га относятся к лесному фонду Таркосалинского лесничества, Уренгойского участкового лесничества, находятся в защитных лесах в квартале № 1674.

Климат территории субарктический континентальный – севернее Нового Уренгоя и умеренный континентальный – южнее. Среднегодовая температура воздуха до 7° С на юге (Ноябрьск). Число дней со сплошным снежным покровом в районе составляет 200-220. Средняя продолжительность безморозного периода в Ноябрьске – 85 дней, даты перехода среднесуточной температуры через 0° С весной – 11 мая, самый теплый месяц лета - июль, средняя температура воздуха в июле составляет 16° С. Число дней в году со средней температурой выше 10° С достигает в Ноябрьске 78. Годовое количество осадков в районе колеблется от 330 мм (север) до 550 мм (юг). Две трети осадков выпадает в теплое время года. Продолжительная и холодная зима и короткое прохладное лето способствует развитию геофизиологических процессов – мерзлотного пучения, термокарста, почвенных криотурбаций и т.д. Все эти явления ярче выражены на севере территории.

Объем очищаемой воды 750 м³. Водный образец нефтесодержащей жидкости, отобранной со шламового амбара имел уровень нефтяного загрязнения 69 мг/дм³. Степень насыщения сульфатами – 2,73 мг/дм³, поверхностно

активными веществами анионноактивными – 3,3 мг/дм³.

Предварительно, в лабораторных исследованиях была отработана схема очистки. В загрязненную воду в количестве 1 дм³, отобранную со шламового амбара вносили навеску биогеосорбента 1 г. Режим эксперимента: аэрация в течении 7 суток, при комнатной температуре (23-25 °С). Далее, воду фильтровали через глауконитовый песок для очистки от клеток биогеосорбента. Воду анализировали на следующие показатели: рН, взвешенные вещества, запах, цветность, перманганатная окисляемость, NO₃⁻, SO₄²⁻, PO₄³⁻, Cl⁻, Pb, Zn, АПАВ, нефтепродукты, дегидрогеназную активность.

На основании результатов лабораторного эксперимента был разработан проект биологической очистки загрязненной жидкости шламонакопителя со следующими видами работ:

1. Выкачивание нефтезагрязненной жидкости (750 м³) со шламового амбара в емкости.
2. Внесение в емкости с водой минеральных удобрений, биогеосорбента – 75 кг на весь объем очищаемой жидкости.
3. Аэрация с помощью мотопомпы или аэрирующих устройств.
4. Фильтрация через песок.
5. Отбор и анализ проб очищенной воды.

ОПИ технологии очистки нефтезагрязненной жидкости шламового амбара с применением биогеосорбента по разработанной технологии были проведены в октябре 2020 года.

2.23.3. Опытно-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов с применением биогеосорбента на территории Ямало-Ненецкого автономного округа в районе кранового узла «Новый Уренгой – Сургут» (ОПИ–1)

В подземном трубопроводе, по которому транспортировался газолин в районе кранового узла «Новый Уренгой – Сургут», произошел прорыв. Возникло

загрязнение газолином около 12 гектаров заболоченной местности лесотундры, а также прилегающего к ней озера размером в 6 гектаров. Объем газолина, пролившегося на землю, составил 4073 м³. Уровень НП превышал в 2 и более раза ДОСНП.

Флора, практически отсутствовала, была представлена отдельными участками трав, сплошного покрова не наблюдалось. Газолин образовал на поверхности заболоченной местности большие лужи. Сразу после разлива было извлечено большое количество мертвых уток. Газолин был собран с помощью специальной технологии: экскаватор ковшом проделывал в земле отверстия, где со временем собиралась вода с газолином. Ямы выкапывались на глубину, которую позволяла сделать мерзлота, около 100-120 см. Далее, после сбора газолина, территория была вспахана. Спустя год после вспашки запах газолина присутствовал и усиливался при приближении к наиболее загрязненному участку.

До начала ОПИ для определения начальной концентрации загрязнения нефтепродуктами, хлоридами и сульфатами в почве промышленной рекультивации были отобраны пробы с участка методом конверта. Далее загрязненный участок подвергли биоремедиации: вспахали и внесли биогеосорбент. Через 60 суток вновь отобрали пробы для определения количественных показателей.

2.23.4. Опытно-промышленные испытания технологии очистки с применением биогеосорбента на территории Ханты-Мансийского автономного округа в районе трассы Лангепас-Покачи (ОПИ–2)

Участок ОПИ с координатами 61°25'42.5"N 75°28'23.5"E находился на территории Западной Сибири, Ханты-Мансийском автономный округе в 28 км от города Лангепас и в 7 км от ЦДНГ № 6 (цех добычи нефти и газа). Для данного района характерны условия Крайнего Севера, чередование болотистой местности и лесных массивов. Участок ОПИ имеет свежее повторное загрязнение

нефтепродуктами, территория болотистая и местами наблюдается нефть, выдавленная на поверхность. Участок расположен вдоль дороги. Площадь загрязненного участка 4 га. Участок, подлежащий рекультивации, относится к землям Лангепасского лесничества Мегионского лесхоза. Загрязнение нефтепродуктами составляло до 6,6 мг/г.

На загрязненном нефтью участке было разбито 3 делянки (1м × 1м) в трех повторностях. В начале эксперимента с каждой делянки была отобрана проба почвы (нулевой контроль). Отбор проб осуществлялся методом «конверта». В емкостях (0,5 дм³) были разведены азотно-фосфорно-калийные удобрения (NPK) по 12 г. Внесение удобрений, глауконита и биогеосорбента проводилось по схеме эксперимента (таблица 2.2). Контролем (К) служил вариант загрязненной нефтью почвы без внесения удобрений, глауконита и биогеосорбента.

Таблица 2.2 – Схема эксперимента

Вариант	NPK, г	Глауконит, г	Биогеосорбент, г
1	12	-	-
2	12	20	-
3	12	-	20
К	-	-	-

Почвенные пробы на агрохимические анализы были отобраны сразу после постановки эксперимента и спустя 60 суток, на микробиологические и биохимические анализы на 0, 3 и 60 сутки.

2.23.5. Опытно-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории насосной подстанции предприятия АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкар с применением биогеосорбента (ОПИ–3)

Эксперимент ОПИ был поставлен на нефтезагрязненном грунте в районе насосной подстанции предприятия АО «КомиАвиаТранс», в частности площадки эксперимента были заложены между трубами, по которым доставляется в подстанцию авиационный керосин. Почва площадок эксперимента – насыпной грунт (песчано-гравийная смесь). В стыках труб образовались ржавые пробоины,

произошла протечка керосина в почву. Авария была устранена. Отбор проб осуществлялся с почв фоновой территории и участков эксперимента.

Экспериментальные площадки – $1 \times 1 \text{ м}^2$ были перекопаны на полштыка лопаты. С участков, методом «конверта», были отобраны контрольные пробы почвы (нулевые точки) на агрохимические (нефтепродукты, рН, хлориды, сульфаты, Nобщ., K подвижный, P подвижный) и биохимические анализы.

Далее в почву участков были внесены минеральные удобрения (2 г растворились в 1 дм^3 воды) (NPK) и минеральные удобрения (NPK) + биогеосорбент (35 г растворили в 1 дм^3 воды) и внесли с помощью опрыскивания. Пробы почв с экспериментальных участков на агрохимические анализы были отобраны сразу и спустя 60 суток и на биохимические – сразу, спустя 3 и 60 суток.

2.23.6. Опытно-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории Республики Коми, п. Ярега в районе демонтированного резервуарного парка с применением биогеосорбента (ОПИ–4)

Был проведен эксперимент на загрязненном участке «Территория демонтированного резервуарного парка УПОН ЦППН НШПП «Яреганефть» ООО «ЛУКОЙЛ Коми» размерами $10 \text{ м} \times 10 \text{ м}$. Почва площадки – насыпной грунт – тяжелый суглинок. В загрязненную почву вносили кородревесную смесь (покрытие загрязненного участка не менее 5 см), минеральные удобрения (NPK 16:16:16) в количестве 10 кг, биогеосорбент в количестве 10 кг. Была проведена вспашка мотокультиватором на глубину 0,3 м и высеяна смесь семян трав-рекультивантов в количестве 10 кг.

Кородревесная смесь была получена методом компостирования из кородревесных отходов, отобранных со склада коры возрастом более шестидесяти лет. Характеристика кородревесной смеси:

- $\text{pH}_{(\text{вод.})} - 8,15;$
- $\text{pH}_{(\text{сол.})} - 7,56;$
- массовая доля азота общего, мг/кг – 6300;
- подвижных соединений
- фосфора (в пересчете на P_2O_5), мг/кг – 7000;
- калия (в пересчете на K_2O), мг/кг – 1030;
- Mg, мг/кг – 3500;
- Ca, мг/кг – 130 000.

Для тяжелой суглинистой почвы были выбраны следующие семена трав: мятлик луговой *Poa pratensis* Linnaeus, 1753 (норма высева 40–80 кг/га), овес *Avena sativa* Linnaeus, 1753 (норма высева 200 кг/га), канареечник тростниковидный *Phalaris arundinacea* Linnaeus, 1753 (норма высева 25–60 кг/га) и клевер гибридный *Trifolium hybridum* Linnaeus, 1753 (норма высева 30–60 кг/га).

Отбор проб осуществлялся с почв фоновой территории, и участков эксперимента на агрохимические показатели до эксперимента и спустя 60 суток, на биохимические анализы до эксперимента, спустя 14 и 60 суток. Отбор проб почвы проводился методом конверта согласно нормативным документам, регламентирующим процедуру отбора проб.

2.23.7. Щебеночный балласт. Биодеструкция и биоконверсия нефтепродуктов

2.23.7.1. Очистка щебеночного балласта от нефтепродуктов

Испытывали альго-бактериально-дрожжевой консорциум в свободной форме (суспензия) и в иммобилизованной (биогеосорбент). Биогеосорбент предварительно замачивали в воде на 12 часов для активизации клеток биопрепарата из расчета 0,3 кг препарата на 10 дм³ воды. Контроль – вода. Определяли содержание НП: эмульгированных в биомассу; на самом щебне.

Щебеночный балласт, загрязненный нефтью в количестве 17 кг загружали

в ротор, добавляли суспензию консорциума микроорганизмов с титром клеток 10^{12} КОЕ/мл (18 л) и аэрировали для равномерного перемешивания щебня в роторе.

Время экспозиции – 72 часа. Частота перемешивания – 4 раза по 1 часу в течение суток. Проводили определение остаточного содержания НП.

Аналогичное испытание проводили с биогеосорбентом. Время экспозиции 1 час. Отбор проб проводили спустя 15 минут и 1 час. Данный эксперимент проводили трижды для отработки режима времени экспозиции.

2.23.7.2. Биоконверсия отработанной суспензии в биодизель

В процессе очистки щебеночного балласта в роторе с помощью альго-бактериально-дрожжевого консорциума проводили отбор проб эмульгированной суспензии спустя 5 минут, 60 минут, 9 часов, 24 часа, 36 часов для определения в ней ЖК и расчета ЦЧ, ЙЧ, плотности, вязкости, теплотворной способности прекурсора биодизеля.

2.24. Статистические методы обработки результатов

Обработку данных осуществляли с применением пакета прикладных программ Statistica 10.0. При статистической обработке данных использовали t-критерий Стьюдента и расчет доверительных интервалов средних арифметических значений, регрессионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 3. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ, КАК ИНДИКАТОР ПРОЦЕССОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ И ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ

3.1. Степень обогащенности почв ферментами. Шкалы.

3.1.1. Оценка ферментативной активности фоновых почв Крайнего Севера (на примере Усинского района) по шкалам Д. Г. Звягинцева и В. И. Титовой

Точные знания территориально климатические условий, биологической активности и продуктивности нефтезагрязненных почвенных и водных объектов необходимы как для оценки направленности и времени восстановления сукцессионных процессов, так и для разработки эффективных биопрепаратов, биосорбентов и других биопродуктов, используемых в качестве биоремедиантов, технологий их использования.

Биологическая активность складывается в результате взаимодействия живых организмов педосферы друг с другом и продуктами их жизнедеятельности. Высокая биологическая – это один из признаков «хорошего» биогеоценоза.

Микроорганизмы и ферменты разной локализации – показатели, вносящие наиболее существенный вклад в биологическую активность почв. Ферменты считаются более точными интегральными показателями, определяющими потенциальную активность всех организмов, населяющих почву.

Работа ферментов определяет доступность элементов питания, а также способность почвы к детоксикации различных поллютантов. По ферментативной активности оценивается плодородие почв, окультуренность, загрязнённость тяжёлыми металлами, нефтью, проводится мониторинг процессов минерализации

нефти, техногенного засоления, диагностируется большой ряд биохимических процессов: гумусообразование, минерализация органических остатков и гумуса, нитрификация, азотфиксация (Хазиев, 2005).

Оценка фоновых почв Крайнего севера на примере Усинского района по данным ФА, полученным за двадцатилетний период наблюдений показала, что степень обогащенности почвенными ферментами (каталазной, дегидрогеназной, уреазной и фосфатазной активности) по шкале Звягинцева (Д. Г. Звягинцев (1978) (табл. 1.7) *очень бедная*, степень обогащенности инвертазой – *бедная*. В вегетационный период происходит рост ФА и степень обогащенности почв каталазной, уреазной активностей повышается до уровня *средней*. Степень обогащенности почв дегидрогеназой – *очень богатая* (Щемелинина и др., 2007, Щемелинина, 2008; Киреева и др., 2008; Мелехина и др., 2015, 2016а,б; Anchugova et al., 2016).

3.1.2. Локальная модель зависимости ферментативной активности криоморфных почв Усинского района Республики Коми различной степени загрязнения НП

Согласно теории индуцированного синтеза ферментов, в ответ на присутствие в среде специфического субстрата или метаболита микроорганизмы и растения вырабатывают соответствующие ферменты (Фёршт, 1980). За счет внеклеточных ферментов и размножения микроорганизмов, вносящий свой растущий пул ферментов, система микроорганизмы-почва может очень быстро повысить определенную ФА и таким образом вернуть систему в состояние гомеостаза (Kozlova et al., 2015; Yang et al., 2020; Zamulina et al., 2021), если оно нарушено поступлением органического вещества, в нашем случае нефти или нефтепродуктов (НП).

В результате 20-летних исследований нефтезагрязненных почв Усинского района Республики Коми был накоплен массив данных о каталазной, дегидрогеназной, уреазной, фосфатазной, протеазной, липазной, инвертазной

сульфит- и сульфатредуктазной, нитратредуктазной активности. Применение метода множественного регрессионного анализа позволило рассмотреть зависимость содержания нефтепродуктов от комплекса показателей ферментативной активности в качестве предикторов. Путем последовательного исключения из анализа показателей ферментативной активности, для которых уровень значимости превышал $p = 0,05$, была предложена локальная прогностическая модель для оценки состояния нефтезагрязненных почв Усинского района Республики Коми:

$$\text{НП} = 406,629 - 75,693 \times \text{Cat} - 12,783 \times \text{Deh} - 2,246 \times \text{Ure},$$

где НП – содержание нефтепродуктов, мг/г;

Cat – каталазная активность, мл 0,1н KMnO_4 /1 г;

Deh – дегидрогеназная активность, мг формазана / 1 г почвы;

Ure – уреазная активность, мг NO_3 /10 г почвы;

Коэффициент детерминации $R^2 = 0,944$.

3.1.3. Динамика ферментативной активности на площадках внесения биопрепаратов и содержание остаточных нефтепродуктов в почве

ФА отражает интенсивность процессов очищения почвы от нефти. На протяжении долгосрочного мониторинга криогенных почв, как нефтезагрязненных самовосстанавливающихся, так и в процессе восстановления с помощью проведенной биоремедиации, были выявлены наиболее показательные ферменты-индикаторы: каталаза, дегидрогеназа и уреазы, данные которых за 20 лет наблюдения свели в комплексный показатель – средний геометрический (GMea).

По значениям GMea ферментативной активности и содержания НП можно судить о влиянии примененных методов биостимуляции (Агростимулирование) и биоаугментации («Петролан», «Иниполь», «Омуг», «Универсал», «Деконтам», «Родер») в деградации НП почвы.

Механизм биodeградации нефтяных углеводородов включает

метаболические реакции, катализируемые различными ферментами, такими как оксигеназы, редуктазы, гидроксилазы и дегидрогеназы (Mbadinga et al., 2011; Varjani, 2017). Дегидрогеназа – фермент, катализирующий реакции отщепления водорода и выполняющий роль промежуточных переносчиков водорода (Хазиев 2005; Zhang et al., 2010) принимает непосредственное участие в деградации углеводов.

Окисление углеводов в микроорганизмах приводит к огромному количеству перекиси водорода – побочному продукту, повреждающему клетки. Реакция разложения токсичной перекиси водорода на воду и молекулярный кислород осуществляется с помощью фермента – каталазы (Хазиев, 2005).

Уреаза преобразует органический азот в аммонийный азот, катализируя гидролиз амидосвязи в органическом веществе, тем самым улучшая азотное питание почвы (Wu et al., 2013).

В почве нерекультивированной площадки **НЗП** ферментативная активность в первые года исследований была подавлена, к 5 году произошло ее повышение (таблица 3.1).

В условиях биоаугментации наблюдалась сходная картина изменения среднего геометрического **ФА** в почве площадок **У, УЛБ, Д, Р**: повышение в течение 3-4 лет от начала эксперимента, что было вызвано усиленной микробной деградацией углеводов. Далее происходило снижение активности. С 14 по 20 годы исследований произошло активное зарастание участков аборигенными травами, кустарниками и деревьями. Ферментный пул почвы был пополнен за счет ферментов прикорневых микроорганизмов.

Метод биостимуляции (**А**) также активировал биологические процессы (таблица 3.1).

Химическое, фото- и биоокисление являются составляющими деградации нефти в почве (Truskewycz et al., 2019). Ключевую роль при рекультивации могут сыграть как отдельные, так и совместные процессы диспергирования, испарения, растворения, сорбции, автоокисления, катаболизма углеводов растениями и

микробами. Однако, среди множества методов восстановления биоремедиация была признана экономически эффективной технологией очистки (Wu et al., 2016).

Метод биостимуляция (А) предполагал добавление питательных веществ в почву во избежание метаболических ограничений микроорганизмов (Wu et al., 2016) и был направлен на стимулирование углеводородокисляющей способности местного микробного сообщества. Преимущество биостимуляции заключается в использовании уже существующих местных микроорганизмов, которые хорошо адаптированы к конкретной почвенной среде, по сравнению с переходными аллохтонными организмами, которые не имеют места в существующем сообществе (Kaczyńska, et al., 2015). Высокая концентрация НП в почве подавляла жизнедеятельность микроорганизмов и метод А был малоэффективным в очистке. Снижение содержания НП к концу эксперимента составило 34,9 %.

Метод биоаугментации показал, что использование для деградации микроорганизмов эффективно, особенно, в первые, 2-5 лет исследований. Скорость деградации снизилась после пятого года, предположительно потому, что большинство из доступных углеводов были удалены, и присутствовали соединения с более высокой молекулярной массой (Riveroll-Larios et al., 2015), подавляющие микроорганизмы почвы. В последующие годы скорость биодеградации может остаться неизменной за счет накопления ингибирующих метаболитов и отсутствие факторов роста микроорганизмов (Silva-Castro et al., 2015). Эффективность очистки почв, с применением методов биоаугментации к 20 году составила от 70,5 % до 89,3 %.

Биодеградация нефти и НП экзогенными естественными популяциями микроорганизмов хорошо известна, поскольку многие бактерии и грибы могут минерализовать углеводороды (Wu et al., 2016; Marchand et al., 2017). Штаммы биопрепарата «Универсал» были выделены из нефтезагрязненных почв месторождений Усинского района Республики Коми и в процессе исследований, высокую эффективность деградации нефтепродуктов почвы показал этот биопрепарат (таблица 2). Снижение содержания нефти в почве вариантов: **У; УЛБ**

за 20 лет исследований составило 86,1 % и 89,3 %, соответственно.

Таким образом, полученные результаты доказывают возможность использования показателя ферментативной активности в качестве индикатора процессов восстановления загрязненных нефтью почв Крайнего Севера.

Таблица 3.1 – Комплексная оценка состояния участка нефтяного разлива № 20 Пермоярбонского месторождения в ходе эксперимента

Вариант эксперимента	Год исследования						
	2002		2003	2004	2006	2009	2021
	Июнь	сентябрь					
НЗП	$\frac{1,786 \pm 0,028}{87 \pm 30}$	$\frac{0,287 \pm 0,007}{85 \pm 30}$ (2,5 ± 0,5) *	$\frac{0,493 \pm 0,003}{85 \pm 30}$ (2,5 ± 0,5)	$\frac{0,473 \pm 0,005}{83 \pm 27}$ (4,11 ± 1,24)	$\frac{1,44 \pm 0,03}{80 \pm 26}$ (7,87 ± 0,12)	$\frac{1,54 \pm 0,03}{78 \pm 25}$ (9,78 ± 0,15)	$\frac{1,49 \pm 0,08}{76 \pm 24}$ (12,0 ± 1,7)
П	$\frac{2,83 \pm 0,06}{177 \pm 9}$	$\frac{2,17 \pm 0,06}{- **}$	$\frac{1,53 \pm 0,03}{-}$	$\frac{1,953 \pm 0,022}{-}$	$\frac{0,533 \pm 0,016}{46,1 \pm 2,3}$ (73,93 ± 0,11)	-	$\frac{1,90 \pm 0,12}{32 \pm 10}$ (82,2 ± 2,6)
И	$\frac{-}{341 \pm 17}$	-	$\frac{1,396 \pm 0,007}{-}$	$\frac{0,483 \pm 0,014}{-}$	$\frac{0,236 \pm 0,009}{130 \pm 6}$ (61,83 ± 0,11)	-	$\frac{1,29 \pm 0,06}{100 \pm 30}$ (70,5 ± 0,3)
У	$\frac{0,796 \pm 0,014}{212 \pm 11}$	$\frac{1,09 \pm 0,04}{-}$	$\frac{1,168 \pm 0,006}{-}$	$\frac{1,728 \pm 0,009}{-}$	$\frac{0,880 \pm 0,006}{45,0 \pm 2,2}$ (78,82 ± 0,11)	-	$\frac{1,51 \pm 0,06}{30 \pm 9}$ (86,1 ± 2,0)
О	$\frac{2,64 \pm 0,04}{468 \pm 23}$	$\frac{1,60 \pm 0,03}{-}$	$\frac{1,483 \pm 0,021}{-}$	$\frac{1,884 \pm 0,003}{-}$	$\frac{1,24 \pm 0,03}{140 \pm 7}$ (79 ± 9)	-	-
УЛБ	$\frac{1,372 \pm 0,021}{420 \pm 130}$	$\frac{1,61 \pm 0,04}{380 \pm 125}$ (9,92 ± 0,11)	$\frac{1,903 \pm 0,010}{210 \pm 70}$ (50,3 ± 0,8)	$\frac{1,917 \pm 0,026}{130 \pm 40}$ (68,8 ± 0,8)	$\frac{1,09 \pm 0,04}{120 \pm 30}$ (71,2 ± 0,6)	$\frac{1,34 \pm 0,05}{65 \pm 20}$ (84,52 ± 0,10)	$\frac{1,40 \pm 0,10}{45 \pm 13}$ (89,31 ± 0,10)
А	$\frac{0,263 \pm 0,007}{315 \pm 110}$	$\frac{0,785 \pm 0,006}{310 \pm 110}$ (1,8 ± 0,6)	$\frac{0,929 \pm 0,003}{280 \pm 90}$ (12,2 ± 1,3)	$\frac{1,238 \pm 0,010}{250 \pm 80}$ (20,4 ± 0,5)	$\frac{2,04 \pm 0,04}{240 \pm 80}$ (22,780 ± 0,018)	$\frac{1,75 \pm 0,07}{210 \pm 70}$ (33,1 ± 0,7)	$\frac{0,99 \pm 0,03}{200 \pm 60}$ (34,9 ± 2,1)
Д	$\frac{1,63 \pm 0,05}{446 \pm 22}$	$\frac{1,563 \pm 0,006}{-}$	$\frac{1,786 \pm 0,006}{-}$	$\frac{1,862 \pm 0,014}{-}$	$\frac{2,92 \pm 0,04}{180 \pm 9}$ (59,54 ± 0,10)	-	$\frac{1,65 \pm 0,06}{95 \pm 29}$ (79 ± 3)
Р	$\frac{1,208 \pm 0,021}{460 \pm 160}$	$\frac{1,307 \pm 0,008}{450 \pm 150}$ (3,23 ± 0,10)	$\frac{1,789 \pm 0,007}{280 \pm 90}$ (39,6 ± 2,4)	$\frac{2,090 \pm 0,010}{230 \pm 60}$ (49,6 ± 2,4)	$\frac{1,9 \pm 0,4}{210 \pm 70}$ (54,84 ± 0,10)	$\frac{1,11 \pm 0,03}{110 \pm 40}$ (76,5 ± 0,5)	$\frac{1,52 \pm 0,08}{100 \pm 30}$ (87,5 ± 0,5)

Примечание: в числителе – среднее геометрическое ферментативной активности; в знаменателе – содержание нефтепродуктов в почве, мг/г; * в скобках – снижение содержания нефтепродуктов относительно исходного для каждого варианта, %; ** – не определено.

3.2. Исследование ферментативной активности нефтезагрязненных почв в качестве индикатора процессов потенциального источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов

В образцах почв с территорий (таблица 3.2), загрязненных нефтью и НП, определяли уровень загрязнения, каталазную, дегидрогеназную и уреазную активности, а также выделяли штаммы микроорганизмов. Содержание НП в образцах почв варьировало от 6,6 и до 450 мг/г. В почве с низким (6,6 мг/г) и средним (87 мг/г) уровнем загрязнения ФА окислительно-восстановительных и гидролитических процессов была не высокой и, напротив, с высоким уровнем загрязнения ФА увеличивалась (таблица 3.2).

В таблицах 3.2, 3.3 дана сравнительная характеристика штаммов микроорганизмов, выделенных из загрязненных НП почв в зависимости от активности почвенных ферментов. Так штамм L18-3, выделенный из почвы с низким уровнем загрязнения и невысокой ФА не смотря на хорошую скорость накопления биомассы характеризовался слабой эмульгирующей активностью при низких стабильности эмульсии и эффективности очистки от НП за 3 суток. Другой штамм 13-1, выделенный из почвы со средним уровнем загрязнения и ФА, соответствующей показателям шкалы зависимости ФА криоморфных почв от содержания в них НП, не был приспособлен к условиям соленой среды, отличался длительной наработкой биомассы, слабой эмульгирующей активностью и низкой эффективностью очистки от НП. Штамм 4-1P(15), выделенный из почвы с уровнем загрязнения выше среднего и повышенной ФА обладал повышенными биоэмульгирующими свойствами, но невысокой эффективностью очистки. Штаммы 3/2, 4/1, 7/2, 15/2, Ф4, Ф6, выделенные из одного источника (почва, загрязнена дизельным топливом содержанием 25,5 мг/г, с невысокой ФА) (таблица 3.2, 3.3) по характеристике сильно отличались друг от друга, но в целом ни один из штаммов не подходил в состав биопрепаратов: штамм 3/2 – был не галотолерантен, обладал слабой эмульгирующей активностью, низкой

эффективностью очистки; штамм 4/1 – был не галотолерантен, не способен к образованию поверхностно-активных; штамм 7/2 – был не галотолерантен, с длительным сроком накопления биомассы, низкой эффективностью очистки; штамм 15/2 – был не способен к образованию поверхностно-активных, с низкой эффективностью очистки; штамм Ф4 – был не галотолерантен с длительным сроком накопления биомассы, не способен к образованию поверхностно-активных; штамм Ф6 – был не галотолерантен. Кроме того, у штаммов 4/1, Ф4 и Ф6 был отмечен переход в некультивируемую форму в стрессовых условиях, что не позволило определить их на эффективность очистки (таблица 3.3).

Штаммы S1-09.15, 2SR-14 выделены из сильно загрязненных почв, обладающих повышенной ФА отличались высокой скоростью накопления биомассы, галотолерантны, образовывали биоПАВ, имели стабильную эмульсию и высокую эффективность очистки от НП (таблица 3.3). Эти штаммы были рекомендованы для дальнейшего их изучения с целью разработки на их основе биопрепаратов, биосорбентов и других биопродуктов нефтеокисляющего действия. Для усиления свойств выбранных штаммов в состав биопродуктов также рекомендовали штамм микроводорослей SYKOA Ch-011-10, как источник молекулярного кислорода, обладающий биоПАВ, стабильной эмульсией и высокой степенью очистки.

Таким образом, на примере исследованных почв, показана взаимосвязь между содержанием НП, ФА и характеристикой штаммов, выделенных из этих почв.

Таблица 3.2 – Ферментативная активность почв почв – индикатор потенциального источника микроорганизмов-нефтедеструкторов

Штамм	Источник	Показатели в нефтезагрязненной почве				Оптимальная среда культивирования
		НП, мг/г	<i>Cat</i> *	<i>Deh</i> **	<i>Ure</i> ***	
3/2	Почва, загрязненная дизельным топливом, Ненецкий автономный округ	25,5	0,1	2,9	12,3	МПА
4/1						МПА
7/2						Чапека
15/2						МПА
Ф4						Чапека
Ф6						МПА
L18-3	Нефтезагрязненная почва, Западная Сибирь 2018г.	6,6	0,09	2,53	10,1	МПА
S1-09.15	Загрязненный грунт железнодорожного полотна, г. Сыктывкар 2015 г.	245	2,9	48	55	МПА
13-1	Загрязненная нефтью почва Усинского района Республики Коми 2002г.	87	1,5	2,5	23,1	Чапека
2SR-14	Нефтяной шламонакопитель Усинского района Республики Коми 2014 г.	450	2,9	87,3	42,7	Чапека
4-1P(15)	Загрязненный грунт железнодорожного полотна, г. Сыктывкар 2015 г.	134	2,8	46,6	53,0	Чапека

Примечание: единицы измерения: * – мл KMnO_4 / 1 г почвы; ** – мг формазана / 10 г почвы; *** – N-NH_4 /1 г почвы.

Таблица 3.3 – Характеристика штаммов, выделенных из загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв

Штамм	Способность к прямому росту на нефти	Галотолерантность	Скорость накопления биомассы до 10^8 КОЕ, дней	Эмульгирующая активность, %	Стабильность эмульсии за 24 часа, %	Эффективность очистки от НП за 3 суток, %
3/2	+	-	4	17±6,1	82	14
4/1	-	-	6	0	0	-
7/2	+	-	8	45±3,5	100	9
15/2	+	+	7	0	0	9
Ф4	-	-	9	0	0	-
Ф6	-	-	6	47±0,5	94	-
L18-3	+	+	3	27±1,7	40	28
S1-09.15	+	+	3	71±3,1	100	69
13-1	+	-	7	14±0,9	63	25
2SR-14	+	+	4	54±2,2	93	72
4-1P (15)	+	+	4	66±1,4	97	36

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 3.

В результате многолетнего мониторинга активности ферментов (каталазы, дегидрогеназы, уреазы, фосфатазы, протеазы, липазы, сульфитредуктазы, сульфатредуктазы и нитратредуктазы) нефтезагрязненных почв составлена локальная модель зависимости ферментативной активности криоморфных почв Усинского района Республики Коми от различной степени загрязнения нефтепродуктами с 2002 года по 2021 год. Модель можно применять в процессе дальнейшего мониторинга этих почв, а также почв данного района для оценки их состояния по первичным данным ферментативной активности. Установлено, что ферментативная активность нефтезагрязненных почв и нефтяных отходов может быть индикатором как оценки процессов восстановления почв, так и источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов. Выявлены наиболее показательные ферменты-индикаторы: каталаза, дегидрогеназа и уреазы. Показана взаимосвязь между содержанием

нефтепродуктов, ферментативной активностью и биотехнологической характеристикой штаммов, выделенных из этих почв. Выявлено, что оптимальным вариантом для выделения эффективных психротолерантных штаммов микроорганизмов, способных к биодеструкции органических загрязнителей, являются почвы северных территорий наиболее загрязненных нефтепродуктами, шламонакопители с длительным сроком хранения, не подвергавшиеся рекультивационным мероприятиям с высокой каталазной, дегидрогеназной и уреазной активностями.

ГЛАВА 4. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ. БИОХИМИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

4.1. Описание микроорганизмов консорциума

Исходя из вышеизложенного, штаммы микроорганизмов для нефтеокисляющего консорциума были отобраны из рабочей коллекции микроорганизмов Института биологии Коми НЦ УрО РАН – из 11 изолятов, выделенных из нефтезагрязненных почв, нефтешламонакопителей, грунтов г. Сыктывкара, г. Усинска, г. Ухты Республики Коми и загрязненных площадок Западной Сибири (г. Новый Уренгой (ЯНАО), г. Урай (ХМАО), г. Лангепас (ХМАО), обладающих высокой каталазной, дегидрогеназной и уреазной активностью.

4.1.1. Штамм *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D

Штамм *Pseudomonas yamanorum* выделен из загрязненного грунта, отобранного с участка железнодорожного полотна в г. Сыктывкаре Республики Коми. Загрязненная почва, характеризовалась высокой каталазной, дегидрогеназной и уреазной активностью (таблица 3.2). Штамму присвоен рабочий номер S1-09.15. Клетки микроорганизмов представлены на рисунке 4.1.

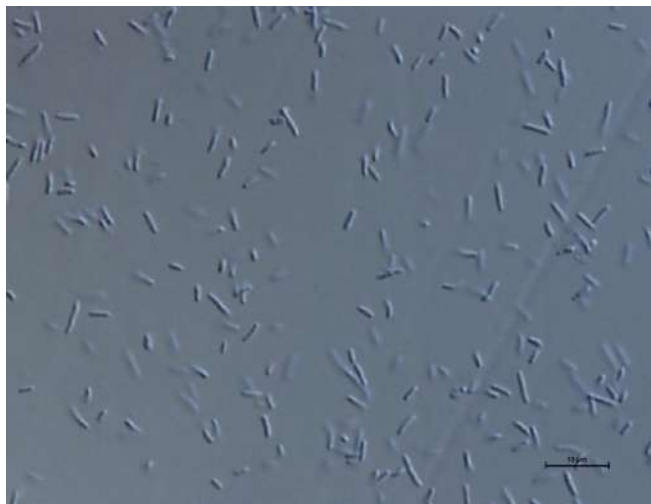


Рисунок 4.1 – Клетки штамма бактерий *Pseudomonas yamanorum*

4.1.1.1. Культурально-морфологическая характеристика штамма

Pseudomonas yamanorum

На среде МПА колонии точечные $\varnothing < 1$ мм, со слизистым чехлом (до 5 мм), палево-желтые, непрозрачные, блестящие, круглые, профиль выпуклый, край ровный. В среду диффундирует неоново-желтый пигмент. На средах Чапека-Докса, Виноградского и КАА окраска колоний палевая, на средах Виноградского и КАА не образует слизи. На средах Эндо и Гисса с глюкозой отмечено обильное образование слизи.

4.1.1.2. Физиолого-биохимическая характеристика штамма

Pseudomonas yamanorum

Аэроб с окислительным типом метаболизма. Не нуждается в факторах роста. Каталазаположительный. Способен к нитрификации. Обладает амилолитической активностью. Использует как единственный источник углеводов сахарозу, глюкозу, лактозу, маннит.

4.1.1.3. Генотипическая характеристика штамма *Pseudomonas yamanorum*

Молекулярно-генетический подход является одним из основных для идентификации вида микроорганизма путем определения и сравнительного анализа последовательности гена 16S РНК, который имеет высококонсервативные и переменные участки. Основное преимущество метода заключается в соответствии количества нуклеотидных замен в этом гене со степенью эволюционного родства микроорганизмов.

Из биомассы суточной культуры было проведено выделение ДНК и получение ПЦР продуктов, выполнено секвенирование и сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и *gyrB* с известными структурами из GenBank.

Получен фрагмент гена 16S рРНК длиной 1328 п.н. Филогенетический анализ показал высокий процент сходства штамма с типовыми штаммами видов *Pseudomonas yamanorum* 8H(T) (Arнау et al., 2015) и *Pseudomonas brenneri* CFML

97-391 (Т) (Baida et al., 2001), 99,92 % и 99,62%, соответственно. С другими видами рода *Pseudomonas* уровень сходства составил ниже 99,40% (таблица 4.1).

С типовыми штаммами видов *Pseudomonas fluorescens* DSM 50090(Т) и *Pseudomonas putida* IAM 1236(Т), образующих с другими видами два отдельных филогенетических плотных кластера, штамм имел уровень сходства 98,10 % и 97,06 %, соответственно. Виды *Pseudomonas yamanorum* и *P.brenneri* входят в *Pseudomonas fluorescens* группу, подгруппу – *P. gessardii* (Arnau et al., 2015; Baida et al., 2001) (таблица 4.1).

Для представителей рода *Pseudomonas* показана возможность использования генов «домашнего хозяйства», и, в частности, бета-субъединиц гиразы (*gyrB*), для идентификации на внутри- и межвидовом уровне в качестве альтернативы методу ДНК-ДНК гибридизации (Yamamoto et al., 2000). Для ряда групп микроорганизмов граница видовой принадлежности установлена на уровне 95 % по сходству генов «домашнего хозяйства», для некоторых групп она выше. К этому виду относят микроорганизмы, значение ДНК-ДНК гибридизации между которыми приблизительно 70 %. Однако, микроорганизмы с меньшим уровнем сходства не могут быть описаны как новые виды при отсутствии значимых фенотипических признаков, отличающихся от ближайших видов (Rossello-Mora, Aman, 2001).

Для исследуемого штамма получен фрагмент гена *gyrB* длиной 959 п.н. Филогенетический анализ показал наибольшее сходство (93,66 %) исследуемого штамма с типовым штаммом вида *Pseudomonas yamanorum* 8Н1(Т) и 92,98 % с типовым штаммом вида *P.brenneri* CFML 97-391 (Т) (таблица 4.2).

Для уточнения филогенетического положения штамма *Pseudomonas yamanorum* S1-09.15 была построена дендрограмма, на основании нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и *gyrB* (рисунок 4.2).

Таблица 4.1 – Сходство последовательностей фрагмента гена 16S rRNA исследуемого штамма с последовательностями ближайших типовых штаммов

Name	Strain	Authors	Accession	Pairwise Similarity (%)	Diff/Total nt
<i>Pseudomonas yamanorum</i>	8HI(T)	Arnau et al., 2015	EU557337	99,92	1/1327
<i>Pseudomonas brenneri</i>	CHML 97-391(T)	Baïda et al., 2001	AF268968	99,62	5/1326
<i>Pseudomonas migulae</i>	CIP 105470(T)	Verhille et al., 1999	AF074383	99,40	8/1327
<i>Pseudomonas proteolytica</i>	CMS 64(T)	Reddy et al., 2004	AJ537603	99,32	9/1327
<i>Pseudomonas umsongensis</i>	Ps 3-10(T)	Know et al., 2003	AF468450	99,25	10/1327
<i>Pseudomonas libanensis</i>	CIP 105460(T)	Dabboussi et al., 1999	AF057645	99,17	11/1327
<i>Pseudomonas lini</i>	CFPB 5737(T)	Delorme et al., 2002	AY035996	99,17	11/1327
<i>Pseudomonas gessardii</i>	CIP 105469	Verhille et al., 1999	AF074384	99,17	11/1326
<i>Pseudomonas panacis</i>	CG20106(T)	Park et al., 2005	AY787208	99,17	11/1326
<i>Pseudomonas mohnii</i>	Ipa-2(T)	Cámara et al., 2007	AM293576	99,17	11/1319
<i>Pseudomonas moorei</i>	RW10(T)	Cámara et al., 2007	AM293566	99,16	11/1309

Продолжение таблицы 4.1

<i>Pseudomonas brassicacearum</i> subsp. <i>neaurantiaca</i>	ATCC 49054(T)	Ivanova et al., 2009	EU391388	99,10	12/1327
<i>Pseudomonas extremaustralis</i>	14-3(T)	López et al., 2009	ANIP010000073	99,02	13/1327
<i>Pseudomonas mandelii</i>	CIP 105273(T)	Verhille et al., 1999	AF058286	99,02	13/1327
<i>Pseudomonas arsenicoxydans</i>	VC-1(T)	Campos et. al., 2010	FN645213	99,02	13/1327
<i>Pseudomonas baetica</i>	A390(T)	López et al., 2012	FM201274	99,02	13/1327
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	DSM50090(T)	Migula, 1894	Z76662	98,10	25/1319
<i>Pseudomonas putida</i>	LAM1236(T)	Migula, 1894	D84020	97,06	39/1328

Таблица 4.2 – Сходство последовательности фрагмента гена *gyrB* (959bp) исследуемого штамма

Name	Strain	Authors	Accession	Pairwise Similarity (%)	Diff/Total nt
<i>Pseudomonas yamanorum</i>	8HI(T)	Arnau et al., 2015	EU557337	93,66	60/946
<i>Pseudomonas brenneri</i>	DSM 15294(T)	Baïda et al., 2002	FN554176	92,98	56/798
<i>Pseudomonas migulae</i>	CCUG 43165(T)	Verhille et al., 1999	FN554204	90,35	77/798
<i>Pseudomonas proteolytica</i>	CIP 108464(T)	Reddy et al., 2004	FN554220	92,36	61/798
<i>Pseudomonas umsongensis</i>	DSM 16611(T)	Know et al., 2003	AM293564	91,46	78/913
<i>Pseudomonas libanensis</i>	CIP 105460(T)	Dabboussi et al., 1999	FN554195	90,98	72/798
<i>Pseudomonas gessardii</i>	CIP 105469T	Verhille et al., 1999	FN554186	92,23	62/798
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	IAMI2022 (T)	Migula, 1894	ABI78888	91,45	82/959
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC12633T	Migula, 1894	AB039451	84,16	141/890



Рисунок 4.2 – Филогенетическое положение штамма *Pseudomonas yamanorum* S1-09.15 на основании нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и *gyrB* с известными структурами из GenBank.

Таким образом, результат анализа фрагмента гена 16S рРНК штамма показал его принадлежность к роду *Pseudomonas*, к филогенетически плотной «*Pseudomonas fluorescens* – группе».

На основании полученных результатов анализа фрагмента гена *gyrB* штамм идентифицирован как *Pseudomonas yamanorum* (Arnau et al., 2015).

Штамм *Pseudomonas yamanorum* депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ В-3033D) (Приложение 1).

4.1.1.4. Анализ жирных кислот клеточной стенки штамма

Pseudomonas yamanorum ВКМ В-3033D

Оценка жирнокислотного состава имеет важное значение для прогнозирования качества и стабильности к хранению конечного продукта. Известно, что жиры, входящие в состав продукта, в наибольшей степени подвержены окислению по двойным связям, в результате которого меняется ненасыщенность жирных кислот. В свою очередь, эти процессы изменяют соотношение в жире ненасыщенных и насыщенных жирных кислот, а также соотношение поли- и мононенасыщенных жирных кислот. Клетки штамма *P. yamanorum* ВКМ В-3033D, культивированного на разных средах МПА – с пептоном содержат насыщенные и ненасыщенные ЖК с четным числом атомов углерода от C12 до C24. Доминирующими жирными кислотами для штамма, культивированного на среде МПА с пептоном являются пальмитиновая (C16:0) (53,1 %), олеиновая (C18:1(9)) (11,7 %), меристиновая (C14:0) (8,7 %), стеариновая (C18:0) (5,9 %) и вакценовая кислота (C18:1(11)) (5,9 %). Остальные ЖК, выявлены в незначительном количестве. (таблица 4.3).

Таблица 4.3 – Состав ЖК клеток штамма *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D

Жирная кислота	Содержание, % от суммарного	
	Штамм <i>Pseudomonas yamanorum</i> , культивированный на среде МПА с пептоном	Штамм <i>Pseudomonas yamanorum</i> , культивированный на среде МПА с дрожжевым гидролизатом
C _{12:0}	1,94	0,59
C _{14:0}	8,72	5,39
C _{15:0}	3,73	1,64
C _{16:0}	53,12	73,91
C _{16:1(9)}	3,07	1,72
C _{17:0}	1,21	0,72
C _{18:0}	5,91	4,32
C _{18:1(9)}	11,74	3,67
C _{18:1(11)}	5,87	1,50
C _{18:2 (9,12)}	0,22	0,40
C _{18:3 (9,12,15)}	0,49	1,38
C _{20:0}	0,73	0,17
C _{22:0}	1,87	3,68
C _{24:0}	1,39	0,92
Насыщенные ЖК	78,62	91,34
Мононенасыщенные ЖК	20,68	6,89
Полиненасыщенные ЖК	0,71	1,78
Степень ненасыщенности	22,10	10,45

4.1.1.5. Поверхностно-активные вещества и эмульгирующая активность штамма *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D

Соединения, снижающие натяжение поверхности у границы раздела фаз, как в водных растворах, так и смесях углеводородов называются поверхностно-активными веществами (биоПАВ или биосурфактанты). Их образование зависит от конкретного штамма микроорганизма. Биосурфактанты способны как диспергировать углеводороды, переводя их в водную фазу и повышая биологическую доступность, так и модифицировать внешние поверхности клеток микроорганизмов за счет гидрофобизации. Таким образом обеспечивается прямой контакт с молекулами углеводородов. БиоПАВ безвредны, не токсические, биологически разлагаемы, активны в стрессовых температурных, кислотных и соленых условиях (Rahman et al., 2019). Благодаря этим качествам биоПАВ применяются в экологической биотехнологии для очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения. Уменьшение поверхностного натяжения свидетельствует о том, что микроорганизм является перспективным продуцентом биосурфактантов (Marajan et al., 2020). При этом микроорганизмы заменяют поверхностно-активные вещества (синтетические сурфактанты), которые представляют собой токсичные вещества с низкой степенью деградельности. Всё это делает актуальным поиск культур-продуцентов биоПАВ и исследование их свойств.

Продукция биоПАВ может быть связана с различными фазами роста микробиологической культуры. Известно, что культуры демонстрируют резкое их возрастание в течение первых-вторых суток роста с дальнейшей стабилизацией на протяжении стационарной фазы роста. Это означает, что определение оптимальной продолжительностью культивирования является предел 4 суток – к этому времени культуры достигают высокого уровня поверхностно-активных свойств, переходя в стационарную фазу роста, дальнейшее ферментирование экономически нецелесообразно. Штамм *P. yamanorum* имеет тенденцию к снижению поверхностного натяжения, с 75 до 31 мН / м.

Для повышения биодоступности гидрофобных поллютантов широко используют в настоящее время способность микробных метаболитов к

эмульгированию. Оценку способности микроорганизмов синтезировать биосурфактанты проводили по индексу эмульгирования. Согласно, данным литературы микроорганизмы, имеющие индекс эмульгирования больше 50 %, считаются перспективным продуцентами поверхностно-активных веществ (Purwasena et al., 2019).

Показано (рисунок 4.3), что штамм способен синтезировать ПАВ на всех исследованных субстратах. Максимальные показатели биосинтеза ПАВ были зафиксированы при культивировании штамма на гидрофильных субстратах: сахарозе (среда Чапека) – 56 % и пептоне (МПБ) – 71 %. Минимальные показатели – на среде М9 с нефтью, не содержащей ростовых факторов (3 %) и гидролизате куриного белка (6 %). На среде Ворошиловой-Диановой и водной вытяжке Индекс эмульгирования составил 43–44 %. Стабильность эмульсии повышалась в ряду: водная вытяжка (40 %) – МПБ (40 %) – среда Ворошиловой-Диановой (46 %).

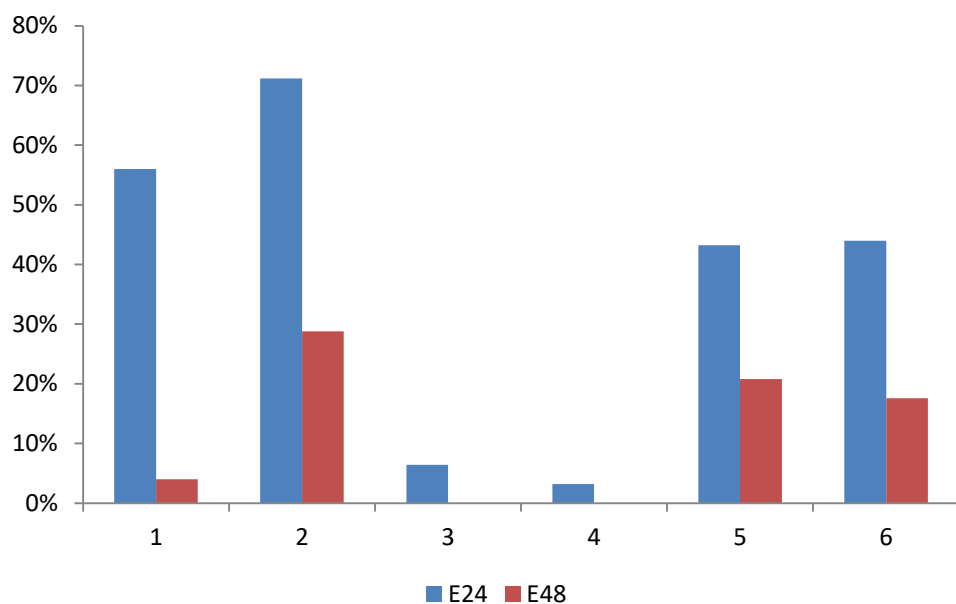


Рисунок 4.3 – Индекс эмульгирования штамма бактерий *P. yamanorum* на средах: 1 – Чапека, 2 – МПБ, 3 – МПБ с гидролизатом куриного белка, 4 – М9 с дизельным топливом, 5 – Ворошиловой-Диановой, 6 – на водной вытяжке.

4.1.1.6. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма

Pseudomonas yamanorum ВКМ В-3033D

Присутствие в микроорганизмах оксидазной ферментной системы обуславливает биохимическое окисление нефтяных углеводородов (Коршунова, 2019). Аборигенный штамм *P. yamanorum* ВКМ В-3033D, выделенный из сильно загрязненного грунта железнодорожного полотна, обладающего высокой дегидрогеназной и уреазной активностью, должен быть эффективным деструктором углеводородов. Для изучения углеводородокисляющих свойств штамма, был проведен ряд экспериментов в присутствии сырой нефти и отработанного масла.

По данным эксперимента (таблица 4.4) происходило снижение ($p < 0,05$) концентрации нефтепродуктов при добавлении штамма *P. yamanorum* титром клеток 10^9 КОЕ/мл в загрязненную отработанным маслом водную среду на 10 % за 7 суток, в загрязненную нефтью водную среду – на 18 % за 7 суток.

Таблица 4.4 – Изменение концентрации нефтепродуктов в водных пробах в присутствии штамма *P. yamanorum* ВКМ В-3033D

Вариант опыта	Концентрация нефтепродуктов в пробах после экспозиции, мг/ 100 см ³
Контроль (водная среда + отработанное масло)	431,0 ± 36,1
Среда + 10 % отработанного масла + 5 см ³ штамма <i>P. yamanorum</i>	387,0 ± 72,1*
Контроль (водная среда + нефть)	384,0 ± 53
Среда + 10 % нефть + 5 см ³ штамма <i>P. yamanorum</i>	314,0 ± 52,9*

Примечание: *- разница достоверна при $p < 0,05$.

Увеличение экспозиции и концентрации культивируемого штамма *P.*

yamanorum VKM В-3033D титром клеток 10^{14} КОЕ/мл в загрязненных водных средах до 14 суток повышало эффективность очистки. Содержание остаточных углеводов в средах, загрязненных отработанным маслом и сырой нефтью уменьшилось на 36,8 – 69 %, соответственно (таблица 4.5).

Таблица 4.5 – Изменение концентрации нефтепродуктов в водных пробах

Вариант опыта	Концентрация нефтепродуктов в пробах после экспозиции, мг/ 100 см ³	
	1 сутки	14 суток
Контроль (водная среда + 10 % отработанное масло)	589,0 ±70,6	688,0 ±82,5
Среда + 10 % отработанного масла + 0,5 см ³ штамма <i>P. yamanorum</i> VKM В-3033D	554,0 ±98,5	372,0 ±72,4
Контроль (водная среда + 10 % нефть)	858,0 ±102,9	687,0 ±82,4
Среда + 10 % нефть + 0,5 см ³ штамма <i>P. yamanorum</i> VKM В-3033D	452,0 ±54,2	269,0 ±32,2

В процессе очистки биомассой бактерий *P. yamanorum* VKM В-3033D (титр клеток 10^{14} КОЕ/мл) загрязненного маслом грунта железнодорожного полотна наблюдалась динамика снижения остаточных нефтепродуктов за 30 и 90 суток (таблица 4.6). Эффективность очистки составила 35 % за 90 суток.

Таблица 4.6 – Изменение концентрации нефтепродуктов в пробах масляного грунта

Вариант опыта	Концентрация нефтепродуктов в пробах после экспозиции, мг/г		
	0 суток	30 суток	90 суток
Контроль (масляный грунт)	20,0 ± 5,0	20,0 ± 5,0	20,0 ± 5,0
Масляный грунт + 5 мл штамма <i>P. yamanorum</i> VKM В-3033D	17,0 ± 5,0	16,0 ± 5,0	13,0 ± 4,0

В ходе эксперимента идентифицировано 12 структур ПАУ от флуорена до бенз[ghi]перилена (таблица 4.7). В результате внесения суспензии штамма *P. yamanorum* отмечено снижение суммарного содержания полиаренов на 44,5 %. По частоте встречаемости индивидуальных соединений в контрольном образце преобладали пирен – 23 %, хризен – 25 %, значительна доля бенз[b]флуорантена – 18 %. В результате обработки произошло снижение доли ПАУ в почве. В компонентном составе ПАУ было отмечено преобладание пирена (25 %) и хризена (24 %), доля бенз[b]флуорантена падает до 6,6 %, при этом концентрация фенантрена в системе повышается с 3 до 21 %. В процессе окисления ПАУ доля низкомолекулярных соединений в составе ПАУ повысилась с 8 до 27 %, что свидетельствовало о преимущественном окислении высокомолекулярных соединений. Для оценки техногенности обнаруженных полиаренов использовали соотношение между углеводородами антропогенного и природного генезиса (Ровинский, 1988). К углеводородам техногенного происхождения относятся, прежде всего, продукты пиролиза органических веществ (пирены, бензпирены, флуорантен). К полиаренам геохимического ряда относят фенантрен и хризен. Индекс техногенности в Контрольном образце составил 1,08, полученное значение, свидетельствовало об отсутствии преобладания антропогенных или природных ПАУ. В результате обработки Индекс снизился до 0,66, что подтверждало способность штамма к деструкции преимущественно техногенных

ПАУ.

Таблица 4.7 – Массовая концентрация ПАУ, мг/ дм³

ПАУ, мг/ дм ³	Контроль (среда + нефть)	Среда + нефть + штамм <i>R. yamanorum</i>
флуорен	0,90	1,13
фенантрен	13,74	5,045
антрацен	2,31	1,61
флуорантен	17,40	10,82
пирен	98,38	58,16
антрацен	37,54	25,27
хризен	104,85	57,97
бенз[b]флуорантен	78,04	15,52
бенз[k]флуорантен	9,53	1,41
бенз[a]пирен	11,84	2,19
дибенз[a,h]антрацен	21,54	4,63
бенз[ghi]перилен	29,98	7,23
сумма ПАУ	426,05	236,40
Доля «легких» ПАУ, %	8	7,8
Индекс техногенности	1,08	0,66

4.1.2. Штамм *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D

Штамм *Rhodotorula glutinis* выделен из пробы нефтяного шламонакопителя Усинского района Республики Коми. Загрязненная почва, характеризовалась высокой каталазной, дегидрогеназной и уреазной активностью (таблица 3.2). Штамму присвоен рабочий номер штамма 2SR-14. Фотографии клеток штамма *Rhodotorula glutinis* представлены на рисунке 4.4.



Рисунок 4.4 – Клетки штамма дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D

4.1.2.1. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические характеристики штамма *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D

Колонии красные слизистые выпуклые блестящие гладкие, край ровный.

Клетки почкующиеся округлые, овальные, $2,5-6,0 \times 4,0-8,5$ мкм, с небольшой капсулой. Баллистоспоры и псевдомицелий отсутствуют.

Образование истинного мицелия и телиоспор не наблюдалось как в монокультуре, так и при скрещивании с типами спаривания *Rhodospiridium babjevae* Golubev, *R. paludigenum* Fell et Tallman и *R. toruloides* Banno.

Сахара не сбраживает.

Ассимилирует глюкозу, мальтозу, мелецитозу (слабо), *L*-арабинозу (слабо), рамнозу (медленно), сорбит, маннит, этанол. Не ассимилирует лактозу, эритрит, арабит, дульцит, инозит, глюкуронат.

Усваивает нитраты, нитриты (медленно), лизин, этиламин (слабо).

Крахмалоподобные вещества не образует.

При +37 °C не растет.

4.1.2.2. Генотипическая характеристика штамма *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D

Проведена генетическая характеристика штамма *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D с помощью анализа нуклеотидных последовательностей регионов рДНК

(малой субъединицы 18S, региона ITS1-5.8S-ITS2 и D1-D2-D3 доменов большой субъединицы 26S), а также гена фактора элонгации транскрипции 1α (*tef-1 α*).

Полученные результаты.

Регион малой субъединицы 18S рДНК. Сходство 99,76% с *Rhodotorula glutinis* CBS 20 (GenBank X69853).

ITS1-5.8S-ITS2 регион рДНК. Сходство 99,49% с *Rhodotorula glutinis* CBS 20 (GenBank AF444539).

D1-D2-D3 домены большой субъединицы 26S рДНК. Сходство 99,88% с *Rhodotorula glutinis* CBS 20 (GenBank NG_055728).

Ген фактора элонгации транскрипции 1α (*tef-1 α*). Сходство 90,14% с *Rhodotorula glutinis* JCM 8208 (= CBS 20) (GenBank KJ707869).

Ген *tef-1 α* отражает штаммовую специфику и рассматривается как ген «домашнего хозяйства» (*housekeeping gene*).

Для уточнения филогенетического положения штамма *Rhodotorula glutinis* была построена дендрограмма на основе нуклеотидных последовательностей регионов 18S, ITS1-5.8S-ITS2, D1-D2-D3 доменов 26S рДНК и гена *tef-1 α* (рисунок 4.5).

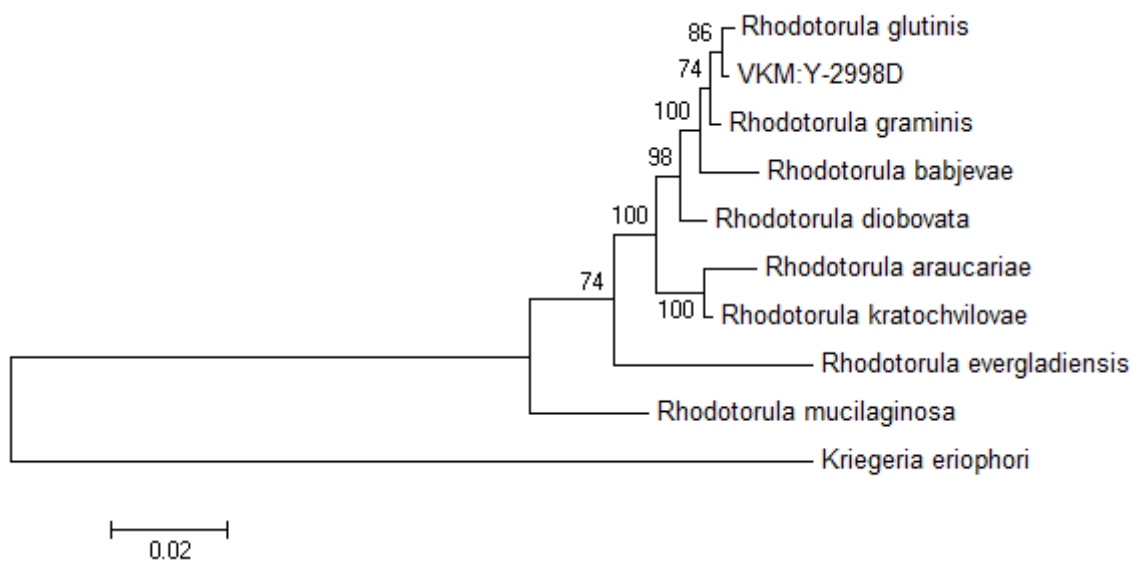


Рисунок 4.5 – Филогенетический анализ (ML) для представителей клада *Rhodotorula glutinis* и штамма VKM Y-2998D на основе нуклеотидных

последовательностей регионов 18S, ITS1-5.8S-ITS2, D1-D2-D3 доменов 26S рДНК и гена *tef-1α*. Бутстрэп более 55% (отмечен на древе) получен для 100 альтернативных построений. Шкала показывает число нуклеотидных замен на 1 нуклеотид. *Kriegeria eriophori* – внешняя группа.

Описание условий, необходимых для культивирования штамма: среда для культивирования следующего состава: на 1000 мл воды – Сахароза 20 г, NaNO₃ – 3,0 г; KН₂PO₄ – 1,0 г; KCl – 0,5 г; MgSO₄×5H₂O – 0,5 г, 15–25 °С, 3–5 суток в условиях жидкофазной ферментации.

Режим хранения штамма – длительное хранение в лиофилизированной форме в плотно запаянных стеклянных ампулах. Кратковременное хранение (для подготовки биомассы с целевым использованием) – периодические пересевы – раз в 2 месяца с хранением выросшей чистой культуры на скошенном агаре среды следующего состава: на 1000 мл воды – Сахароза 30 г, NaNO₃ – 3,0 г; KН₂PO₄ – 1,0 г; KCl – 0,5 г; MgSO₄×5H₂O – 0,5 г; агар микробиологический – 20,0 г; в закрытых пробирках в холодильнике при температуре не выше +6 и не ниже +1 °С.

В классификации микроорганизмов по группам патогенности Санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 от 1 мая 2008 г. «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» данный вид (род) не значится.

Штамм депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов РАН им. Скрябина. Штамму присвоен номер VKM Y-2998D (Приложение 2).

4.1.2.3. Анализ жирных кислот штамма *Rhodotorula glutinis*

VKM Y-2998D

Доминирующими жирными кислотами для штамма *R. glutinis* являются насыщенные и ненасыщенные ЖК с четным числом атомов углерода от C12 до C24: олеиновая (C_{18:1(9)}) (60,7 %), пальмитиновая (C_{16:0}) (20,9 %), вакценовая кислота (C_{18:1(11)}) (6,4 %) и пальмитолеиновая (C_{16:1(9)}) (4,6 %). Содержание

остальных ЖК в клеточной стенке штамма было незначительно (таблица 4.8).

Таблица 4.8 – Состав ЖК клетки штамма *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D

Жирная кислота	Содержание, % от суммарного
C _{12:0}	0,16
C _{14:0}	3,06
C _{15:0}	0,38
C _{16:0}	20,97
C _{16:1(9)}	4,58
C _{17:0}	0,12
C _{18:0}	1,22
C _{18:1(9)}	60,68
C _{18:1(11)}	6,39
C _{18:2 (9,12)}	1,29
C _{18:3 (9,12,15)}	0,18
C _{20:0}	0,21
C _{22:0}	0,45
C _{24:0}	0,30
Насыщенные ЖК, %	26,87
Мононенасыщенные ЖК, %	71,65
Полиненасыщенные ЖК, %	1,47
Степень ненасыщенности	74,59

4.1.2.4. Поверхностно-активные вещества и эмульгирующая активность

Rhodotorula glutinis VKM Y-2998D

Выявлена способность к образованию поверхностно-активных веществ у штамма *R. glutinis*. Клетки штамма *R. glutinis* VKM Y-2998D в процессе роста на среде Чапека с нефтью продуцировали внеклеточные ПАВ, снижающие поверхностное натяжение жидкости до 34 ± 1 мН/м, в то время как в контроле

(чистой минеральной среде) поверхностное натяжение было равно 67 ± 1 мН/м.

Индекс эмульгирования дрожжевого штамма достигал максимально 49 % при культивировании на среде Чапека, минимальное значение 5 % отмечено на среде М9. При этом стабильность эмульсии для всех сред составляла от 33 до 40 % (рисунок 4.6).

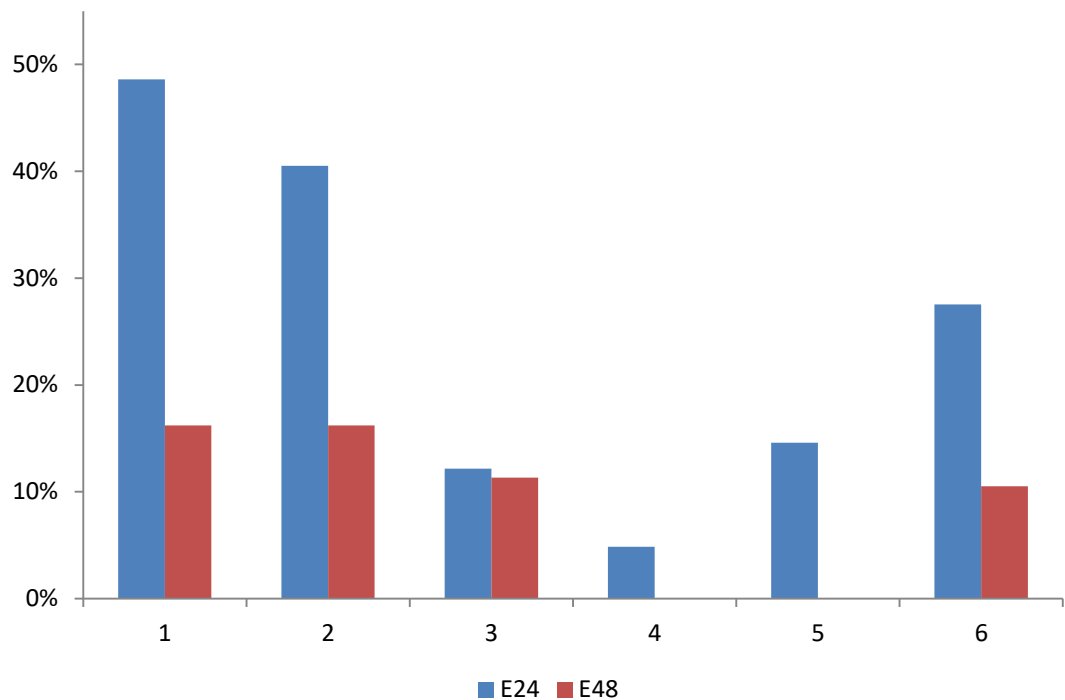


Рисунок 4.6 – Индекс эмульгирования штамма дрожжей *R. glutinis* на средах: 1 – Чапека, 2 – МПБ, 3 – МПБ с гидролизатом куриного белка, 4 – М9 с дизельным топливом, 5 – Ворошиловой-Диановой, 6 – на водной вытяжке.

4.1.2.5. Биодеструкция нефтепродуктов в присутствии штамма

Rhodotorula glutinis VKM Y-2998D

Не смотря на то, что использование штаммов дрожжей в биотрансформации нефтепродуктов пользуется меньшей популярностью, чем использование бактерий, дрожжи обладают не меньшей деструктивной эффективностью.

Способность штамма к биодеструкции нефти и нефтепродуктов изучали в

лабораторных экспериментах. Как видно из данных анализа (таблица 4.9), в присутствии штамма *R. glutinis* VKM Y-2998D (титр клеток 10^9 КОЕ/мл) происходит снижение концентрации растворенных в воде углеводов на 46 % за 7 суток, причем объем внесенной биомассы не играет роли.

Таблица 4.9 – Изменение концентрации нефтепродуктов в водных пробах в присутствии штамма *R. glutinis* VKM Y-2998D

Варианты опыта	Содержание нефтепродуктов, мг/100 см ³
Контроль (среда + 10 % нефти)	445,0 ± 133,5
Среда + 10 % нефти + 5 см ³ штамма <i>R. glutinis</i> VKM Y-2998D	236,0 ± 70,8
Среда + 10 % нефти + 0,5 см ³ штамма <i>R. glutinis</i> VKM Y-2998D	222,0 ± 70,0

В ходе эксперимента идентифицировано 10 структур ПАУ от флуорена до бенз[а]пирена (таблица 4.10). Внесение культуры дрожжей *R. glutinis* VKM Y-2998D разрушало низкомолекулярные полиарены (до 71 % за семь суток). Высокомолекулярные окислялись слабо. В значительной степени за 7 суток произошло снижение доли отдельных ПАУ: флуорена, фенантрена, пирена и бенз[а]антрацена. Индекс техногенности в образце как в контрольном, так и в образце с суспензией штамм составил 0,17, полученное значение свидетельствовало о преобладании антропогенных ПАУ. В результате обработки не отмечали достоверных изменений показателя. Закономерностей изменения состава антропогенных и природных полиаренов для данного штамма не обнаружено.

Таблица 4.10 – Массовая концентрация ПАУ, нг/ дм³

ПАУ, мг/дм ³	Контроль (среда + нефть)	Среда + нефть + штамм <i>R. glutinis</i>
флуорен	828,7	217,5
фенантрен	114,7	47,1
антрацен	1,9	2,0
флуорантен	0,38	0,56
пирен	21,50	9,74
бенз[а]антрацен	4,36	0,50
хризен	11,6	16,9
бенз[б]флуорантен	7,55	3,17
бенз[к]флуорантен	0,14	0,09
бенз[а]пирен	0,69	0,62
сумма ПАУ	991,3	289,1
Доля «легких» ПАУ, %	95	92
Индекс техногенности	0,175	0,17

4.1.3. ШТАММ *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024

Ранее считалось, что микроводоросли являются дополнительным фотосинтетическим агентом к микроорганизмам-нефтедеструкторам, существующим в ассоциациях и принимают лишь косвенное участие в очистке загрязнений от нефти и нефтепродуктов. В настоящее время есть данные исследований о том, что альго-бактериальные ценозы способствуют разрушению мазута, продуктов органического синтеза и прочих ксенобиотиков (Хаалди Kalhor et al., 2017; Salehi et al., 2019; Ashvaniy et al., 2019; Méndez García et al., 2021; Di Carpio, 2021). Некоторые виды водорослей способны к гетеротрофному росту на источниках органического углерода. Например, микроводоросли *Prototheca zopfii* способны разлагать до 60 % насыщенных алифатических углеводородов и до 41 %

ароматических соединений (Laraib et al., 2020). По предположению Семенова Ю. В. с соавторами (2012) хлорелла разрушает только часть как бы «наиболее безвредного для себя» нефтяного загрязнения, а другую часть, выделяемый хлореллой протектор переводит в объемно растворимое комплексное соединение хелатного типа и блокирует тем самым негативное воздействие нефтепродуктов на культуру. Нами был исследован штамм микроводоросли *Chlorella vulgaris* как монокультура, так и в составе консорциума.

Штамм микроводоросли *Chlorella vulgaris* выделен в 2010г. из почвы на стоянке оленеводов в Приполярном Урале (рисунок 4.7).

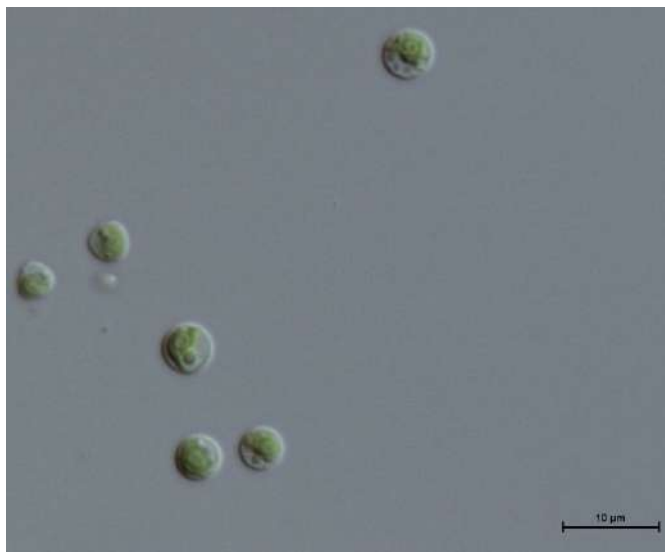


Рисунок 4.7 – Клетки микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024

4.1.3.1. Морфологическая характеристика штамма *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024

Форма клеток – шаровидная, размер от 3.3 до 13.3 мкм в диаметре. Пириниод округлый с 2-4 крахмальными зёрнами, хорошо заметный. Хроматофор чашевидный, зелёный. Жгутиков нет, автоспоры освобождаются путем разрыва материнской оболочки и имеют форму от неправильно шаровидной до тетраэдрической, пустые оболочки материнских клеток двух-трехдольчатые. Особенности морфологии при длительном хранении: увеличение размеров клеток за счет вакуолизации, образование бесцветных капель масла в клетках. Особенности морфологии в условиях оптимального роста: большая часть клеток

находится в диапазоне 6-8 мкм.

Описание условий, необходимых для культивирования штамма: среда для культивирования следующего состава: на 1000 мл воды – KNO_3 – 5.0 г, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 2.5 г, $\text{KH}_2\text{PO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 1.25 г, FeSO_4 – 0.003 г в течение 7 суток в условиях жидкофазной ферментации.

Режим хранения штамма – для подготовки биомассы с целевым использованием – периодические пересевы – 1 раз в 2 месяца с хранением выросшей чистой культуры на скошенном агаре среды Болда.

В классификации микроорганизмов по группам патогенности Санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 от 1 мая 2008 г. «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» данный вид (род) не значится. Штамм депонирован в Институте физиологии растений им. К. А. Тимирязева (IPPAS) с номером IPPAS С-2024 (Приложение 3).

Состав жирных кислот клеточной стенки штамма *Chlorella vulgaris*. В составе ЖК стенок штамма *C.vulgaris* IPPAS С-2024, культивированного на среде Болда доминируют насыщенные и ненасыщенные ЖК с четным числом атомов углерода от С12 до С24: пальмитиновая (С16:0) (37,2 %), олеиновая (С18:1(9)) (29,9 %), стеариновая (С18:0) (11,0 %) меристиновая (С14:0) (8,7 %). Остальные ЖК, выявлены в незначительном количестве.

4.2. Эффективность по критериям «время обработки/виды загрязнений»

В таблицу 4.11 внесены результаты исследований монокультур (бактерий *P. uataporum*, дрожжей *R. glutinis*) в зависимости от загрязнения определенным нефтепродуктом (отработанное масло, нефть) и от времени экспозиции культур в загрязненной среде. Эффективность очистки от НП составила 37-69 % за 7-30 суток. Трансформировались как низкомолекулярные, так и высокомолекулярные ПАУ.

Таблица 4.11 – Эффективность очистки от НП штаммами микроорганизмов *P. yamanorum* и *R. glutinis* по критериям «время обработки/виды загрязнений» при уровне загрязнения 10 %

Микроорганизмы	Время обработки, сутки	Эффективность очистки, %		Трансформация ПАУ, % флуорен, фенантрен, пирен, бенз[а]антрацен, флуорантен
		Масло	Нефть	
<i>R. glutinis</i>	7	Не опр.	46	72
<i>P. yamanorum</i>	14	37	69	45

Таким образом, по результатам оценки эффективности биодеструкции определено, что монокультуры обладают высокой степенью биотрансформации нефтепродуктов и могут использоваться для дальнейших исследований в составе консорциума в свободной и иммобилизованной форме.

4.3. Токсикологическая оценка микроорганизмов

R. glutinis и *P. yamanorum*

4.3.1. Патогенность штаммов (вирулентность, токсичность, токсигенность, диссеминация) для млекопитающих

В период наблюдения клинических симптомов заболевания у животных не наблюдалось, гибель отсутствовала.

ЛД₅₀ для крыс при внутрибрюшинном введении взвеси микроорганизмов превышает 10⁹ микробных клеток. Для мышей ЛД₅₀ при внутрибрюшинном и при внутрижелудочном введении также превышает 10⁹ микробных клеток. Таким образом, штаммы *R. glutinis* VKM Y-2998D и *P. yamanorum* VKM B-3033D не являются вирулентным.

Рост культур в посевах из органов животных при обоих способах введения не обнаружен. Таким образом, микроорганизмы штаммов *R. glutinis* VKM Y-2998D и *P. yamanorum* VKM B-3033D не способны к диссеминации и не вызывают бактериального поражения органов.

Контрольной группе животных вводили физиологический раствор. В опыте и контроле использовали по 6 животных на дозу. В течение срока наблюдения - (15 суток) гибели мышей не было. Таким образом, компоненты микробных клеток исследуемых штаммов *R. glutinis* VKM Y-2998D и *P. yamanorum* VKM B-3033D не являются токсичными для теплокровных животных.

На протяжении всего срока наблюдения (15 суток) клинических симптомов заболевания и гибели животных не было. При внутрижелудочном введении ЛД₅₀ для фильтрата 3-х суточной культуральной жидкости превышает 2,0 мл, при внутрибрюшинном - 1,6 мл на животное. Для 7-ми суточной культуральной жидкости при внутрижелудочном введении ЛД₅₀ превышает 1,8 мл, при внутрибрюшинном - 1,4 мл. Полученные результаты свидетельствуют о не токсигенности штаммов *R. glutinis* VKM Y-2998D и *P. yamanorum* VKM B-3033D.

В соответствии с методическими указаниями Минздрава СССР № 2620-82 и № 4263-87 по показателям вирулентности, диссеминации, токсичности и токсигенности ассоциация микроорганизмов *R. glutinis* VKM Y-2998D и *P. yamanorum* VKM B-3033D, является не патогенной для теплокровных животных.

4.3.2. Гигиеническая характеристика штаммов. Содержание токсичных и опасных веществ

Питательные среды Чапека для культивирования дрожжей *R. glutinis* и МПА для культивирования бактерий *P. yamanorum* не содержат тяжелые металлы в сверхнормативных пределах, остатки стойких хлорорганических пестицидов (ДДТ и ГХЦГ), 3,4-бенз(а)пирена, радионуклиды. Действующее начало препарата почвенные микроорганизмы, также не содержащие выше перечисленные опасные вещества. В таблице 4.12 дана микробиологическая характеристика консорциума.

Таблица 4.12 – Микробиологическая характеристика

Число жизнеспособных клеток в препарате, млрд/1 г, не менее	3,5 – 6,5
К концу гарантийного срока хранения, млрд./1 г, не менее	1,5 – 2,5
Наличие посторонней сапрофитной микрофлоры, 10 ⁵ /г, не более	2,0

Наличие в консорциуме патогенных и болезнетворных микроорганизмов (кл/г.), в т.ч.: *E.coli*, сальмонелл, протей, стафилококков, колиформных бактерий, бацилл, энтерококков – не обнаружено.

Таким образом, в результате токсиколого-гигиенической оценки микроорганизмов *R. glutinis* и *P. yamanorum*, входящих в состав консорциума выявлено, что он относится к классу опасности 3В – умеренно опасный продукт, СанПиН 1.2.2584-10 и может применяться в экологической биотехнологии.

4.4. Фитотоксичность штаммов

Известно, что при обработке нефтезагрязненной почвы микроорганизмами, можно восстановить ее естественную растительность (Hussain et al., 2018). Поэтому штаммы микроорганизмов (*R. glutinis*, *P. yamanorum*, *C.vulgaris*) были подвергнуты проверке на токсичность и стимуляцию растений. Фитотоксичность оценивается по количеству проросших семян, длине стеблей и корней. Перед экспериментом все семена замачивали в суспензиях монокультур. Оценивалась способность исследуемых штаммов к стимуляции роста в % к контролю (таблицы 4.13 – 4.16). Токсичными считают культуры микроорганизмов, вызывающие либо снижение всхожести семян, либо угнетение развития проростков и корней более чем на 30 % по сравнению с контролем (Зенова и др., 2002).

Выявлено, что культуральная жидкость дрожжей *R. glutinis*, VKM Y – 2998 снижала всхожесть семян и угнетала развития проростков и корней кресс-салата (*Lepidium sativum*) и снижала всхожесть семян и угнетала развития корней горчицы (*Sinapis*). Однако, для красного клевера (*Trifolium pratense*) и овса (*Avena*

sativa) ее воздействие было не токсичным и стимулирующим. Культуральные жидкости штаммов *P. yamanorum*, *C.vulgaris* не оказывали угнетающего воздействия, напротив, были не токсичны и стимулировали рост корней и проростков кресс-салата (*Lepidium sativum*), горчицы (*Sinapis*), красного клевера (*Trifolium pratense*), овса (*Avena sativa*) (таблица 4.15, 4.16).

Таблица 4.13 – Количество проросших семян кресс-салата (*Lepidium sativum*) и их ростовые характеристики

Варианты	Количество проросших семян		Длина корня		Длина проростка	
	шт.	% к контролю	мм	% к контролю	мм	% к контролю
Контроль	24	100	45	100	35	100
<i>P. yamanorum</i> , VKM B – 3033D	18	75	6	13	18	51
<i>R. glutinis</i> , VKM Y - 2998	6	25	2	4	6	17
<i>C.vulgaris</i> Andr. IPPAS C - 2024	16	67	5-10	11-22	12	34

Таблица 4.14 – Количество проросших семян горчицы (*Sinapis*) и их ростовые характеристики

Варианты	Количество проросших семян		Длина корня		Длина проростка	
	шт.	% к контролю	мм	% к контролю	мм	% к контролю
Контроль	23	100	48	100	30	100
<i>P. yamanorum</i> , VKM В – 3033D	30	100	46	96	21	70
<i>R. glutinis</i> , VKM У - 2998	2	8,7	1-2	2-4	10	30
<i>C. vulgaris</i> Andr. IPPAS С - 2024	19	83	2-5	4-10	16	53

Таблица 4.15 – Количество проросших семян клевера (*Trifolium pratense*) и их ростовые характеристики

Варианты	Количество проросших семян		Длина корня		Длина проростка	
	шт.	% к контролю	мм	% к контролю	мм	% к контролю
Контроль	14	100	15	100	18	100
<i>P. yamanorum</i> , VKM В – 3033D	15	100	5	33	15	83
<i>R. glutinis</i> , VKM У - 2998	11	78	6	40	10	55
<i>C. vulgaris</i> Andr. IPPAS С - 2024	5	35	5	33	9	50

Таблица 4.16 – Количество проросших семян овса (*Avena sativa*) и их ростовые характеристики

Варианты	Количество проросших семян		Длина корня		Длина проростка	
	шт.	% к контролю	мм	% к контролю	мм	% к контролю
Контроль	14	100	55	100	40	100
<i>P. yamanorum</i> , VKM B – 3033D	7	50	17	31	15	37
<i>R. glutinis</i> , VKM Y - 2998	10	71	23	41	16	40
<i>C. vulgaris</i> V. Andr. IPPAS C - 2024	8	57	17	31	12	30

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 4.

Описаны фенотипические, молекулярно-генетические и хемотаксономические особенности изолятов штаммов микроорганизмов, выделенных из загрязненного грунта железнодорожного полотна и нефтяного шламонакопителя. Микроорганизмы идентифицированы согласно требованиям современной систематике: штамм бактерий *Pseudomonas yamanorum* и штамм дрожжей *Rhodotorula glutinis*. Штаммы *P. yamanorum*, *R. glutinis* депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов (VKM ИБФМ РАН) с номерами VKM B-3033D и VKM Y-2998D, соответственно. Для усиления свойств выбранных штаммов в состав биопродуктов ввели штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* СУКОА Ch-011-10, как источник молекулярного кислорода. Штамм микроводорослей *C. vulgaris* депонирован в коллекции культур микроводорослей (IPPAS) (ИФР РАН) с номером IPPAS C-2024. Показана эффективность очистки от нефти и нефтепродуктов при загрязнении 10 % *Pseudomonas yamanorum*: 37-69 % за 14 суток, *Rhodotorula glutinis*: 46 % за 7 суток.

ГЛАВА 5. АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНО-ДРОЖЖЕВОЙ КОНСОРЦИУМ В СВОБОДНОЙ ФОРМЕ

Основным механизмом процесса биодеструкции нефти и нефтепродуктов является микробное ферментативное окисление углеводов. Не смотря на то, что углеводороды относятся к группе химически стойких органических веществ, микроорганизмы способны к каталитическому окислению практически всех углеводов, входящих в состав нефти. Биокаталитическое окисление углеводов до воды и углекислого газа большинством микроорганизмов происходит с помощью адаптивных и конститутивных ферментов путем длительного процесса каталитических реакций с образованием промежуточных продуктов метаболизма – спиртов, альдегидов, кетонов, жирных и карбоновых кислот (Тимергазина, Переходова, 2012). Препараты, содержащие в своем составе консорциум микроорганизмов, усиливают и ускоряют процессы микробиологического разрушения нефтяных углеводов в почве и в воде, а наличие в их составе штаммов микроводорослей, имеет более широкие адаптационные и экологические возможности для использования. Альго-бактериально-дрожжевой консорциум значительно повышают устойчивость фототрофов к загрязнению. В мини-сообществе (т.е. в фикосфере) бактерии обеспечивают микроводоросли углекислым газом, микроэлементами (например, железом и витаминами) и макроэлементами, такими как неорганический азот, фосфат и сера. В свою очередь, микроводоросли, как первичные продуценты, обеспечивают бактерии кислородом и органическим углеродом (Ashraf et al., 2023).

Создание и практическое применение консорциумов на основе аборигенных микроорганизмов-деструкторов с фотосинтезирующими организмами расширяет их биотехнологические возможности и может использоваться не только для решения экологических проблем.

5.1. Альго-бактериально-дрожжевого консорциум

Консорциум был составлен из штаммов бактерий *P. yamanorum*, VKM В – 3033D, титром клеток 10^{12} КОЕ/мл., дрожжей *R. glutinis*, VKM Y – 2998, титром клеток 10^8 КОЕ/мл. и микроводорослей *C. vulgaris* IPPAS С-2024, титром клеток 10^8 кл/мл. Фото консорциума представлено на рисунке 5.1.

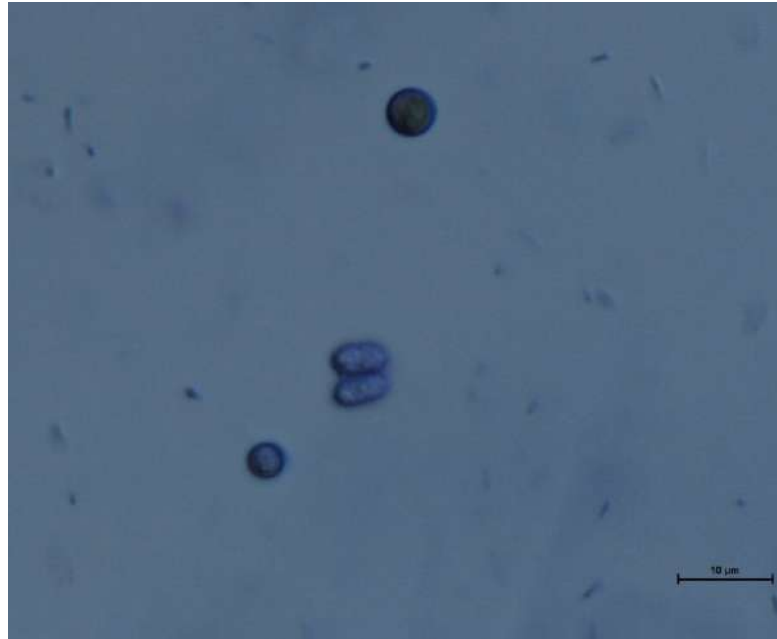


Рисунок 5.1 – Альго-бактериально-дрожжевой консорциум

5.2. Анализ жирных кислот

альго-бактериально-дрожжевого консорциума

Несмотря на то, что каждый штамм в отдельности был исследован на состав ЖК, оценивали и состав клеток консорциума. Показано, что консорциум содержит насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты с четным числом атомов углерода от C_{12} до C_{22} (таблица 9.1). Доминирующими ЖК консорциума были олеиновая ($C_{18:1(9)}$) (51,10 %), пальмитиновая ($C_{16:0}$) (29,84%), линолевая ($C_{18:2(9,12)}$) (8,27 %). Остальные ЖК были выявлены в незначительном количестве.

Показано, что консорциум содержит насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты с четным числом атомов углерода от C_{12} до C_{22} (таблица 5.1)

Таблица 5.1 – Состав ЖК клетки консорциума

Жирная кислота	Содержание, % от суммарного
C _{12:0}	0,02
C _{14:0}	1,50
C _{15:0}	0,12
C _{16:0}	29,84
C _{16:1(9)}	2,99
C _{17:0}	0,05
C _{18:0}	1,92
C _{18:1(9)}	51,10
C _{18:1(11)}	0,18
C _{18:2 (9,12)}	8,27
C _{18:3 (9,12,15)}	3,18
C _{20:0}	0,12
C _{22:0}	0,20
C _{24:0}	0,49
Насыщенные ЖК, %	34,24
Мононенасыщенные ЖК, %	54,27
Полиненасыщенные ЖК, %	11,45
Степень ненасыщенности	77,17

5.3. Эмульгирующая активность консорциума

При культивировании альго-бактериально-дрожжевого консорциума на водной вытяжке шлама наблюдали увеличение количества синтезированных ПАВ. Индекс эмульгирования достигал 64 % при стабильности эмульсии 97 %. Ниже в ряду эмульгирующей активности находилась среда Чапека 50 % с сохранением высокой стабильности эмульсии. Культивирование биопрепарата на гидрофобных субстратах показало, что при достаточно высокой продукции биоПАВ (32–42 %) существенно снижается стабильность эмульсии (рисунок 5.2).

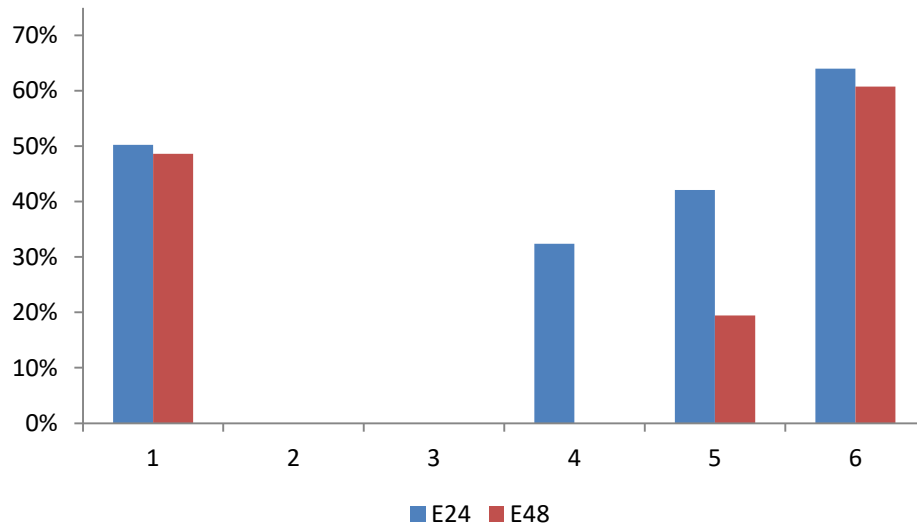


Рисунок 5.2 – Индекс эмульгирования биопрепарата на средах: 1 – Чапека, 2 – МПБ, 3 – МПБ с гидролизатом куриного белка, 4 – М9, 5 – Ворошиловой-Диановой, 6 – на водной вытяжке.

5.4. Биотехнологические свойства альго-бактериально-дрожжевого консорциума

Синергетический эффект. Степень синергизма – это количественная оценка способности двух или более компонентов (Van Dyk, 2012), в нашем случае, микроорганизмов консорциума, взаимодействовать в их действии на субстрат (нефть и нефтепродукты).

Сравнительная оценка монокультур и консорциума в двух средах модельной воды при загрязнении сырой нефтью 0,5 % и 1 % показала, что окислительная способность консорциума оказалась значительней, чем монокультур. Расчет количественной оценки эффективности (коэффициента синергизма) можно провести по формуле, предложенной Шарифуллиным и соавторами (Шарифуллин и др. 2007), примененной с учетом полученных результатов содержания НП в среде, после обработки среды микроорганизмами консорциума:

$$K_{\text{син.}} = C/(A+B),$$

где C – эффективность очистки нефтезагрязненной воды при внесении консорциума, A – эффективность очистки нефтезагрязненной воды при внесении

бактерий, B – эффективность очистки нефтезагрязненной воды при внесении дрожжей. При этом, что если $K_{\text{син.}} > 1$, то проявляется синергетический эффект. Исходя из данных рисунка 3 были проведены расчеты $K_{\text{син.}}$. Максимальный синергетический эффект в обоих случаях был выше 1 и при концентрации НП в воде 5 г/дм^3 составил 1,48, а при 10 г/дм^3 – 1,28.

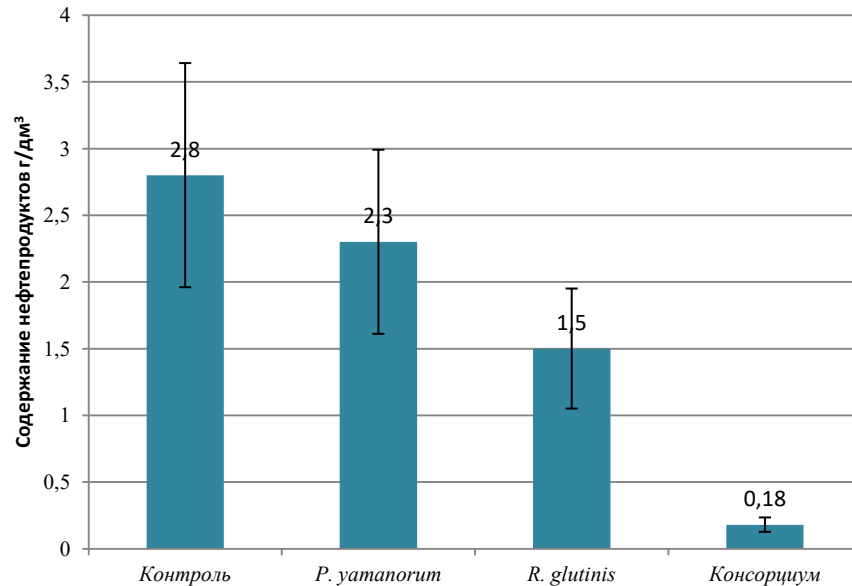


Рисунок 5.3 – Содержание НП после очистки при загрязнении нефтью 5 г/дм^3

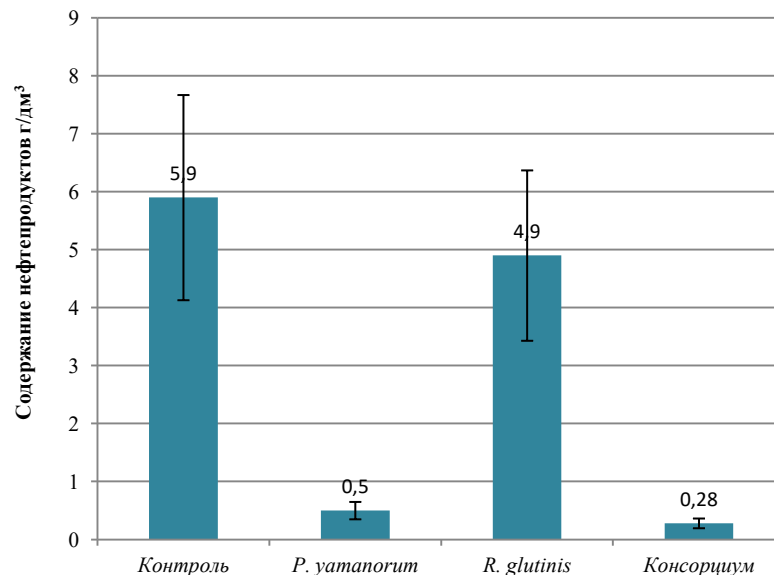


Рисунок 5.4 – Содержание НП после очистки при загрязнении нефтью 10 г/дм^3

Исходя из данных рисунков 5.3 и 5.4 проведены расчеты $K_{\text{син.}}$.

5.5. Способность деструкции нефтепродуктов консорциума в разных соотношениях микроорганизмов

Проводилось изучение свойств консорциума в зависимости от соотношения культур микроорганизмов (таблица 5.2).

Универсальность консорциума заключается в высокой вариативности состава штаммов, в зависимости от конкретной задачи. При необходимости очистки от трудноразлагаемых загрязнителей в консорциум входят все 3 составляющих микроорганизма (бактерии *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, дрожжи *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, микроводоросли *Chlorella vulgaris* IPPAS С-2024) в соотношении определяемом в зависимости от типа почвы, состава нефтепродуктов, концентрации загрязнения. Рассмотрены возможные соотношения монокультур:

- в бактериально-дрожжевые консорциумы: бактерии *P. yamanorum* : дрожжи *R. glutinis* (50%:50%; 60%:40%), с минимальным содержанием одного из штамма (0,1%:99,9% или 99,9%:0,1%);
- в альго- бактериально-дрожжевые консорциумы: (бактерии *P. yamanorum*, дрожжи *R. glutinis*): микроводоросли *C. vulgaris* (50%:50%; 70%:30%) (таблица 5.2).

Таблица 5.2 – Свойства альго-бактериально-дрожжевого консорциума в зависимости от соотношения микроорганизмов

Культуры микроорганизмов	Соотношение	Свойства
Бактерии <i>P. yamanorum</i> / дрожжи <i>R. glutinis</i>	50/50	Снижение концентрации растворенных в воде НП на 53 %, снижение до 80 % низкомолекулярных ПАУ (от C ₁₃ H ₁₀ до C ₁₆ H ₁₀) за 14 суток. Снижение содержания нефтепродуктов в грунте (ПГС железнодорожного полотна) за 3 суток – 40 %.
Бактерии <i>P. yamanorum</i> / дрожжи <i>R. glutinis</i>	60/40	Снижение концентрации растворенных в воде НП на 50 %, снижение до 75 % низкомолекулярных ПАУ (от C ₁₃ H ₁₀ до C ₁₆ H ₁₀) за 14 суток. Снижение содержания НП в грунте (ПГС железнодорожного полотна) за 3 суток – 42%.
Бактерии <i>P. yamanorum</i> / дрожжи <i>R. glutinis</i>	0,1/99,9	Снижение концентрации растворенных в воде НП на 46 %, снижение до 72 % низкомолекулярных ПАУ (от C ₁₃ H ₁₀ до C ₁₆ H ₁₀) за 14 суток. В значительной степени происходило снижение доли отдельных ПАУ: C ₁₃ H ₁₀ , C ₁₄ H ₁₀ , C ₁₆ H ₁₀ и C ₁₈ H ₁₂ за 7 суток.

Продолжение таблицы 5.2

Культуры микроорганизмов	Соотношение	Свойства
Бактерии <i>P. yamanorum</i> / дрожжи <i>R. glutinis</i>	99,9/0,1	Снижение содержания НП в воде, загрязненной отработанным маслом на 36,8 %, загрязненной нефтью на 96% за 14 суток. В грунте снижение содержания НП на 35% за 90 суток.
Бактерии <i>P. yamanorum</i> дрожжи <i>R. glutinis</i> / микроводоросли <i>C. vulgaris</i>	50/50	Снижение концентрации растворенных в воде НП на 90–92 %, снижение на 83 % низкомолекулярных ПАУ (от $C_{13}H_{10}$ до $C_{16}H_{10}$), снижение доли отдельных ПАУ: $C_{13}H_{10}$, $C_{14}H_{10}$, $C_{16}H_{10}$ за 14 суток.
Бактерии <i>P. yamanorum</i> дрожжи <i>R. glutinis</i> / микроводоросли <i>C. vulgaris</i>	70/30	Снижение концентрации растворенных в воде НП на 84 % за 30 суток. Метаболизировались 81 % низкомолекулярные ПАУ (от $C_{13}H_{10}$ до $C_{16}H_{10}$), в значительной степени происходило снижение доли отдельных ПАУ: $C_{13}H_{10}$, фенантрена, флуорантена и $C_{16}H_{10}$ за 7 суток.

В ходе эксперимента идентифицировано 12 структур ПАУ от флуорена до бенз[а]пирена (таблица 5.3). Микроорганизмы консорциума метаболизировали высокомолекулярные ПАУ до 69 %. Эксперимент показал, что за 7 дней увеличилась доля низкомолекулярных ПАУ (от флуорена до пирена) на 30 %. В значительной степени за 7 суток произошло снижение доли отдельных ПАУ: пирена, бенз[а]антрацена, хризена, бенз[б]флуорантена, бенз[к]флуорантена. Индекс техногенности в контрольном образце составил 1,245. Полученное значение свидетельствовало об отсутствии преобладание антропогенных или природных ПАУ. В результате обработки Индекс снизился до 0,88, что подтверждало способность консорциума к деструкции преимущественно техногенных ПАУ.

Таблица 5.3 – Массовая концентрация ПАУ, мг/ дм³

ПАУ, мг/ дм ³	Контроль (среда + нефть)	Среда + нефть + консорциум
флуорен	1,07	0,89
фенантрен	14,9	37,43
антрацен	2,7	1,46
флуорантен	22,3	10,35
пирен	114,4	65,18
бенз[а]антрацен	51,9	12,13
хризен	94,9	48,6
бенз[б]флуорантен	120,0	23,7
бенз[к]флуорантен	109,8	1,15
бенз[а]пирен	14,8	3,2
Дибенз[а,h]антрацен	36,5	7,5
Бенз[ghi]перилен	20,2	13,3
сумма ПАУ	603,4	224,9
Доля «легких» ПАУ, %	6,8	22,3
ИТ	1,245	0,88

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 5.

Сконструирован новый нефтеокисляющий альго-бактериально-дрожжевой консорциум, усиливающий биотехнологические свойства. Консорциум проявляет синергетический эффект ($K_{\text{син}}$ при концентрации НП в воде 5 г/дм³ составил 1,46, а при 10 г/дм³ – 1,28). Обнаружено, что альго-бактериально-дрожжевой консорциум обладает высокой углеводородокисляющей активностью (эффективность очистки до 96 %), разлагает до 80 % низкомолекулярных ПАУ (от флуорена до пирена) за 14 суток.

Конкретная задача в зависимости от типа почвы, состава нефтепродуктов, концентрации загрязнения предполагает вариативность состава штаммов. При необходимости очистки от трудноразлагаемых загрязнителей в консорциум входят все 3 составляющих микроорганизма (бактерии *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, дрожжи *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, микроводоросли *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024).

ГЛАВА 6. АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНО-ДРОЖЖЕВОЙ КОНСОРЦИУМ В ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМЕ

В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал, свидетельствующий об увеличении стабильности иммобилизованных клеток по сравнению со свободно культивируемыми микроорганизмами. Характеристика стабильности - это более продолжительное активное функционирование клеток при расширенных температурных оптимумах и pH, повышенная устойчивость к токсичным воздействиям окружающей среды. Клетки, иммобилизованные на носителях, ингибируются более высокими концентрациями образованных ими продуктов, нежели свободные (Иммобилизованные, 2014). Условиями иммобилизации и подбора носителей является обеспечение минимальными повреждениями клеток и препятствование диффузии, простота изготовления биосорбентов. Качество сорбентов определяется главным образом их емкостью по отношению к загрязнению, степенью гидрофобности, плавучестью после сорбции, возможностью десорбции, регенерации или утилизации сорбента.

6.1 Иммобилизация альго-бактериально-дрожжевого консорциума на разных носителях

Основные научно-технические параметры иммобилизованных микроорганизмов консорциума на различных носителях приведены в таблице 6.1.

В качестве сорбентов были испытаны: органический (обезвоженный осадок активного ила – отход производства ЦБОСВ АО «Монди СЛПК»); минеральные (глауконитовый и анальцимсордсодержащий носители); полусинтетический (катионный полиакриламид) (рисунок 6.1).

По ряду показателей в качестве носителя микроорганизмов был выбран глауконитовый минерал - наиболее доступный, безвредный и экономически выгодный. Далее приводятся результаты исследований разработанного биогеосорбента.

Таблица 6.1 – Основные научно-технические параметры исследованных биосорбентов

Биосорбент	Происхождение	Микроорганизмы, иммобилизованные на носителе	Срок плавучести на поверхности, суток	Сорбционная нефтеемкость, кг (нефть/сорбент)	Биодеструктивная активность в аэробных условиях при температурах от +10°C до +25°C	Биодеструктивная активность в аэробных условиях при температурах от 0°C до +10°C	Биоразлагаемость	Необходимость специализированной утилизации	Стоимость носителя, рубл./кг
Обезвоженный осадок активного ила	Органический	<i>R. yamanorum</i> <i>R. glutinis</i> <i>C. vulgaris</i>	Постоянно	10-14/1	88-96%	-	Нет	Требуется	13
Глауконит	Природный минеральный	<i>R. yamanorum</i> <i>R. glutinis</i> <i>C. vulgaris</i>	60	7-10/1	65-99%	60-70%	Да	Не требует	10
		<i>C. vulgaris</i>		7-10/1	85%	-	Да	Не требует	
Аргиллит	Природный минеральный	<i>R. yamanorum</i> <i>R. glutinis</i> <i>C. vulgaris</i>	60	6-8/1	71-77%	-	Да	Не требует	20
		<i>C. vulgaris</i>		6-8/1	93%	-	Да	Не требует	
Катионный полиакриламид	Полусинтетический	<i>R. yamanorum</i> <i>R. glutinis</i> <i>C. vulgaris</i>	30	7-8/1	40-60%	-	Да	Требуется	130



Рисунок 6.1 – Биосорбенты (носители с иммобилизованным альго-бактериально-дрожжевым консорциумом): А: Обезвоженный осадок активного ила; Б: Глауконитовый минерал (**Биогеосорбент ГЕОЛЕКС®**); В: Аргиллитовый минерал; Г: Катионный полиакриламид.

6.2. Физико-химические основы процесса восстановления нефтяных загрязнений с помощью глауконита – минеральной основы биогеосорбента

Физико-химические свойства глауконита делают его практически незаменимыми для формирования естественных и искусственных геохимических барьеров, обуславливая использовать его высокую поглотительную способность для решения проблем защиты окружающей среды от воздействия различных экотоксикантов, способных интенсивно мигрировать в гидро- и геосфере и тем самым нарушать нормальный ход биохимических процессов (Михайлюк, 2019).

При внесении в среду (грунты, воды) алюмосиликатов, способных сместить реакцию среды за пределы области устойчивого существования глинистых минералов породы, она будет подвержена интенсивному гидролизу. Однако началу реализации такого разрушительного процесса противодействуют факторы буферности. Но, поскольку глауконит является сложной минеральной системой, то, согласно принципу Ле-Шателье, он оказывает тормозящее противодействие неблагоприятному для его устойчивого состояния изменению реакции среды. Глауконитовые кристаллические решетки за счет их буферного действия противопоставляются агрессивному токсическому действию любых реагентов, в том числе НП (Михайлюк, 2019). Примером может послужить выделение глауконитовой породой оксидов, нейтрализующих ионы токсического вещества, которые вызвали сдвиг pH среды (таблица 6.2).

Таблица 6.2 – Функция фактора буферности

рН среды	Экстракция из глауконита при взаимодействии с ионами химического реагента	Смещение среды
Кислая	Na_2O , K_2O , CaO , MgO и др., Fe_2O_3 и Al_2O_3	Благоприятное, снижение химической «агрессии»
Щелочная	Амфотерные оксиды R_2O_3 , оксид кремнезема SiO_2 и кислые соли слабых кислот, а также гумусовые вещества	Благоприятное, снижение химической «агрессии»

6.3. Иммобилизация клеток консорциума на минеральный носитель – глауконит

Исследовали способность клеток альго-бактериально-дрожжевого консорциума к пассивной адсорбционной иммобилизации на минеральном носителе – глауконите. Биогеосорбент получали путем обработки сорбента (алюмосиликата – глауконита) крупностью 0,1–0,25 мм альго-бактериально-дрожжевым консорциум (титр клеток 10^{12}) в соотношении 1 часть консорциума к 10 частям сорбента.

Микроскопирование биогеосорбента показало наличие клеток альго-бактериально-дрожжевого консорциума на поверхности минерала (рисунок 6.2). При адсорбционной иммобилизации клеток, которая обусловлена электростатическими силами, одновременно реализуется несколько типов адгезионного взаимодействия, поэтому трудно выделить роль каждого из них по отдельности. Тем не менее, Наибольшее влияние на связывание клеток микроорганизмов с носителем оказывают диполь-дипольные взаимодействия.

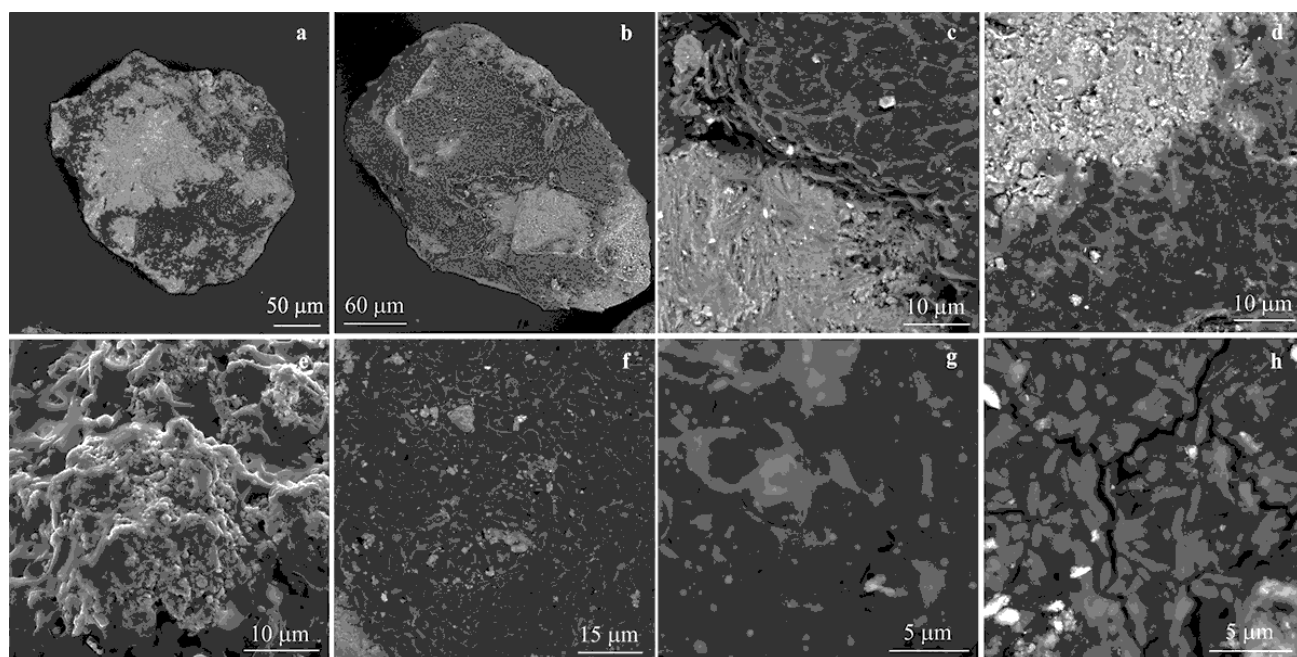


Рисунок 6.2 – СЭМ-изображения поверхности биогеосорбента (светлое – порода, темное – клетки консорциума), е – режим вторичных электронов, остальное – режим упруго-отраженных электронов

6.4. Биологическая активность и нефтеокисляющая способность биогосорбента в зависимости от условий и срока хранения

6.4.1. Дегидрогеназная активность и нефтеокисляющая способность биогосорбента

Активность ферментов как индикатор биологической активности объекта можно применять в разных случаях. Так, например, для анализа различных функциональных показателей иммобилизованных клеток на сорбентах, таких как жизнеспособность, метаболическая и синтетическая активности, предлагаются методы, которые условно можно разделить на микробиологические, морфоцитохимические и биохимические (Иммобилизованные..., 2014).

Выбранный нами метод определения ферментативной активности, является достаточно чувствительным, отражающим функциональное состояние микроорганизмов. Наиболее точный и нетрудоемкий способ определения жизнеспособности иммобилизованных клеток на сорбенте – это метод определения дегидрогеназной активности биогосорбента.

При сроке хранения биогосорбента 1 год в разных условиях (Г1, Г3) происходило снижение его дегидрогеназной активности в 2 и более раза (таблица 6.3). В течение следующего года дегидрогеназная активность Г4 при хранении в условиях комнатной температуры оставалась не измененной. При хранении Г2 в условиях перепада температур в 60 °С на второй год активность повышалась и достигала активности Г0. Причиной активации клеток и увеличения активности дегидрогеназы и, следовательно, усиления процессов нефтеокисления (таблица 6.3, 6.4) в биогосорбенте была повышенная влажность.

Таблица 6.3 – Дегидрогеназная активность, мг формазана / 1 г биогеосорбента за 24 часа

Препарат	Влажность, %	Дегидрогеназная активность
Г0	1,65	8,85±0,22
Г1	2,67	3,77±0,13
Г2	3,88	7,57±0,38
Г3	1,87	3,33±0,11
Г4	1,93	3,29±0,11
Глауконит	1,49	0,0001

При попадании в питательную синтетическую или природную среду клетки микроорганизмов выходят из состояния анабиоза и активно функционируют, окисляя нефтепродукты (таблица 6.4).

Носитель-глауконит без микроорганизмов сорбировал нефтепродукты с воды на 31,4 % (таблица 6.4) за 3 суток. В биогеосорбентах происходила не только сорбция нефтепродуктов, но и их биотрансформация. Так, в модельной воде при использовании Г0 эффективность очистки была самой высокой и составила 50,5 % за 3 суток. Активность биогеосорбентов со сроком хранения 1 и 2 года была снижена не намного. Достоверной разницы нет.

Таблица 6.4 – Нефтеокисляющая способность биогеосорбента

Вариант эксперимента	НП, мг/ 50 см ³	Эффективность очистки от НП, %
Г0	25,1 ± 6,3	50,5
Г1	28,6 ± 7,15	43,6
Г2	25,5± 6,4	49,7
Г3	25,9 ± 6,5	48,9
Г4	29,1 ± 7,27	42,6
Глауконит	34,8 ± 10,4	31,4
Контроль	50,7 ± 15,2	

Дегидрогеназная активность биогеосорбентов коррелировала с остаточным содержанием нефтепродуктов в модельной воде, очищенной с помощью биогеосорбентов (таблица 6.3, 6.4).

Таким образом, определение дегидрогеназной активности биогеосорбента, показало, что в результате иммобилизации на глауконите клетки микроорганизмов, а также их ферменты стабилизируются и длительное время сохраняют свою активность. При попадании в благоприятную среду (загрязненную нефтью и НП) выходят из состояния анабиоза, активно разлагая НП.

6.4.2. Микробиологическая активность биогеосорбента

Кроме исследования биохимических процессов в биогеосорбенте для определения функционального состояния иммобилизованных на глауконите клеток были проведены анализы его микробиологической активности в зависимости от времени культивирования.

Состав питательных сред определили оптимальные условия культивирования соответствующих штаммов биогеосорбента: МПА – штамм бактерий *Pseudomonas yamanorum*, Чапека – штамм дрожжей *Rhodotorula glutinis*, Тамия – штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris*. Штаммы микроорганизмов, входящие в состав биогеосорбента отличаются по размеру клеток, воспроизводимости и скорости роста и деления. Посевы на потенциальные питательные среды для роста были проведены с учетом этих особенностей. Посев на среду для роста бактерий МПА осуществляли до 12-го разведения, для роста дрожжей на среду Чапека до 10-го разведение, для роста микроводорослей на среду Тамия до 8-го разведения (таблица 6.5 – 6.9).

Посев с контрольного образца (глауконита без микроорганизмов) показал отсутствие на носителе как микроорганизмов биогеосорбента, так и посторонней микрофлоры.

Визуальный осмотр проб в колбах показал постепенную наработку микроорганизмов на питательных средах путем изменения цвета.

Жизнеспособность микроорганизмов в свежеприготовленном образце – Г0 была самая высокая. Клетки бактерий и дрожжей активно размножались и уже к 3 суткам вышли на стационарную фазу кривой роста (таблица 6.9). Клеткам микроводорослей необходимо больше времени для выхода из состояния анабиоза и повышения потенциальной активности. В биогеосорбентах сроком давности 1 и 2 года, хранящимся при комнатной температуре – Г3 и Г4 способность к восстановлению синтетической активности была практически одинаковая (таблица 6.7, 6.8). Клетки бактерий и дрожжей нарабатывали плотную биомассу в течение 3 суток, микроводоросли на 8 сутки. В образце, хранящемся в условиях низких температур в течение 1 года – Г1 способность к продуцированию и делению клеток восстанавливалась постепенно, спустя 48 часов (таблица 6.5). Микроорганизмы, иммобилизованные на Г2 активизировались значительно быстрее, чем на Г1 за счет повышенной влажности этой пробы (таблица 6.6).

Таблица 6.5 – Численность микроорганизмов, высеванных с образца Г1

Время культивирования	МПА, КОЕ/ см ³				Чапека, КОЕ/ см ³				Тамия, кл./ см ³			
	10 ²	10 ⁴	10 ⁸	10 ¹²	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸
2 часа	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 часов	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 часа	3	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
48 часов	21	1	4	0	9	0	0	1	0	0	0	0
3 суток	149	23	20	3	57	3	0	0	1	0	0	0
5 суток	259	31	31	10	120	5	2	1	12	3	1	0

Таблица 6.6 – Численность микроорганизмов, высеянных с образца Г2

Время культивиро вания	МПА, КОЕ/ см ³				Чапека, КОЕ/ см ³				Тамия, кл./ см ³			
	10 ²	10 ⁴	10 ⁸	10 ¹²	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸
2 часа	15	10	5	1	6	2	0	0	0	0	0	0
6 часов	32	12	9	6	12	3	1	0	0	0	0	0
24 часа	120	100	56	13	14	12	4	1	0	0	0	0
48 часов	460	1	4	0	29	20	5	1	0	0	0	0
3 суток	Спл.	Спл.	200	107	870	300	120	45	10	4	1	0
5 суток	Спл.	230	150	65	520	160	145	32	15	8	3	1

Таблица 6.7 – Численность микроорганизмов, высеянных с образца Г3

Время культивиро вания	МПА, КОЕ/ см ³				Чапека, КОЕ/ см ³				Тамия, кл./ см ³			
	10 ²	10 ⁴	10 ⁸	10 ¹²	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸
2 часа	1	10	3	1	6	2	0	0	0	0	0	0
6 часов	3	10	5	1	12	3	1	0	0	0	0	0
24 часа	12	12	6	3	18	12	4	1	0	0	0	0
48 часов	44	13	8	5	21	20	5	1	0	0	0	0
3 суток	53	19	13	8	23	22	7	1	0	0	0	0
5 суток	240	34	16	12	34	26	19	0	1	1	0	0

Таблица 6.8 – Численность микроорганизмов, высеянных с образца Г4

Время культивиро вания	МПА, КОЕ/ см ³				Чапека, КОЕ/ см ³				Тамия, кл./ см ³			
	10 ²	10 ⁴	10 ⁸	10 ¹²	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸
2 часа	1	0	1	1	4	1	0	0	0	0	0	0
6 часов	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 часа	2	1	0	0	2	4	0	0	0	0	0	0
48 часов	33	1	3	0	6	1	0	1	0	0	0	0
3 суток	235	34	12	1	34	6	0	0	1	1	0	0
5 суток	300	56	23	10	44	16	10	0	1	1	0	0

Таблица 6.9 – Численность микроорганизмов, высеянных с образца Г0

Время культивиро вания	МПА, КОЕ/ см ³				Чапека, КОЕ/ см ³				Тамия, кл./мл			
	10 ²	10 ⁴	10 ⁸	10 ¹²	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ²	10 ⁴	10 ⁶	10 ⁸
2 часа	Спл.	356	140	20	Спл.	250	180	37	0	0	0	0
6 часов	Спл.	480	400	23	Спл.	360	230	105	0	0	0	0
24 часа	Спл.	560	350	120	Спл.	340	320	270	0	0	0	0
48 часов	Спл.	Спл.	780	513	Спл.	340	400	98	10	1	0	0
3 суток	Спл.	Спл.	Спл.	870	Спл.	Спл.	743	548	15	12	4	2
5 суток	Спл.	340	250	134	Спл.	Спл.	690	345	45	17	10	4

6.5. Лабораторные эксперименты по проверке эффективности биогеосорбента для очистки водных и почвенных объектов от нефти и нефтепродуктов

Для изучения сорбционных и углеводородокисляющих свойств биогеосорбента проводили комплекс экспериментов в модельной воде в присутствии сырой нефти и отработанного масла, на отобранном грунте с железнодорожного полотна, на мелкодисперсном грунте после отмывки его

экстрагенами, отобранного со шламонакопителей Усинского района Республики Коми.

6.5.1. Оценка сорбционных и деструктивных свойств биогеосорбента при использовании на водных объектах

Исследование очистки водных экосистем наиболее актуально в настоящее время, поскольку как в России, так и в целом в мире загрязнение водных ресурсов с каждым годом увеличивается, что создает катастрофические проблемы окружающей среды и здравоохранения. Природные водоемы подвержены загрязнениям как от сточных вод, так и в результате экологических катастроф (Necherurenko, 2020). Промышленные предприятия оборудованы разнообразными очистными сооружениями, которые в зависимости от принципа действия процесса очистки сточных вод подразделяются на механические, физико-химические, химические и биологические. Несмотря на эти процессы, применяемые в очистных сооружениях предприятий, ПДК основных загрязняющих веществ на выходе зачастую завышены и не соответствуют нормам.

Особенностью водных объектов является то, что практически любой водный объект: река, море, ручей, сточные воды промышленных и коммунальных предприятий представляют собой неустойчивую экосистему, постоянно перемешиваемую и изменяющуюся. Нестабильность водных экосистем, загрязненных поллютантом существенно осложняет задачу подбора как технологии очистки, так и применения того или иного препарата, биогеосорбента. Универсальных методов не существует и в каждом отдельном случае необходим индивидуальный подход, решаемый проблему очистки от загрязнений воды.

6.5.1.1. Оценка сорбционных свойств биогеосорбента

Проведен ряд экспериментов на выявление сорбционных свойств биогеосорбента с разной концентрацией нефти и масла в воде (таблица 6.10). С учетом дегазации и испарении легких фракций НП, было обнаружено, что сорбционная емкость (за минуту) глауконита составляет 10 г/г, биогеосорбента –

8 г/г.

Таблица 6.10 – Сорбционные свойства глауконита и биогеосорбента

Образец	Содержание НП в воде, мг/дм ³			
	Нефть			Отработанное масло
	1000,0	2500	50000	30000
Контроль	690,0 ±172	2370±284	48000±5760	26300±3156
Глауконит	68,0 ±17	200,0±50	3500±420	2700±324
Биогеосорбент	86,0 ±21	290,0±72	5800±696	3300±396

В ходе исследований выявлено снижение сорбционных свойств глауконита после иммобилизации на нем клеток микроорганизмов в 1,2 – 1,65 раза. Это вызвано уменьшением удельной поверхности и пористости носителя за счет адгезионно закрепленной биомассы микроорганизмов и подтверждается экспериментальными данными определения удельной площади поверхности глауконита и биогеосорбента (таблица 6.11). Удельная поверхность и пористость глауконита без микроорганизмов на порядок выше характеристик биогеосорбента.

Таблица 6.11 – Удельная поверхность и пористость минерального носителя без и с клетками альго-бактериально-дрожжевого консорциума

Образец	Удельная поверхность, м ² /г	Общий объем пор, см ³ /г	Объем мезопор, см ³ /г	Объем микропор, см ³ /г
Глауконит	18,66	0,0147	0,0068	0,010
Биогеосорбент	2,02	0,0014	0,0006	0,001

6.5.1.2. Оценка деструктивного потенциала биогеосорбента в водной среде

Не смотря на то, что сорбционные свойства глауконита выше, чем у биогеосорбента, существенная разница в содержании НП в минерале указывает (таблица 6.12), что клетки микроорганизмов, иммобилизованные на глауконите, участвуют в процессах биотрансформации и деструкции углеводородов нефти. Если принять в качестве контроля содержание НП, сорбированное на глауконите, то эффективность очистки с помощью альго-бактериально-дрожжевого консорциума биогеосорбента составила 62 % за 4 суток (таблица 6.12). Разница достоверна при $p < 0,05$.

Таблица 6.12 – Изменение концентрации нефтепродуктов в воде в присутствии исходных минеральных носителей и биосорбентов

Вариант эксперимента	Содержание нефтепродуктов в пробах после экспозиции, г
Загрязненная нефтью вода (контроль)	0,12±0,041
Минеральный носитель (глауконит)	$\frac{0,035 \pm 0,012}{90 \pm 40}$
Биогеосорбент	$\frac{0,045 \pm 0,016}{34 \pm 14}$

*Примечание: в числителе содержание нефтепродуктов в экспериментальной воде, мг/дм³, в знаменателе – содержание нефтепродуктов в исходном минеральном носителе-глауконите и биогеосорбенте после эксперимента, мг/г.

6.5.2. Оценка сорбционных и деструктивных свойств биогеосорбента при использовании на почвенных объектах

6.5.2.1. Оценка использования биогеосорбента в качестве биоремедианта для очистки мелкодисперсного грунта

Для оценки использования биогеосорбента в качестве биоремедианта для очистки персистентных загрязнителей был отобран мелкодисперсный грунт.

Мелкодисперсный грунт с остаточным нефтяным загрязнением образуется после промывки нефтезагрязненных почв и грунтов или торфа на

специализированной установке от более крупных фракций и после отделения мутящего раствора. Ранее такой мелкодисперсный грунт скапливался на площадках или подвергался захоронению. Целенаправленное окультуривание мелкодисперсного грунта с остаточным углеводородным загрязнением и повышение его плодородия с помощью агротехнических мероприятий позволит использовать его для рекультивации различных нефтешламонакопителей, а разработанная технология повышения плодородия в последующем может быть включена в Проект по рекультивации указанных нефтешламонакопителей.

По сравнению с фоновой почвой в мелкодисперсном грунте было снижено содержание подвижных форм калия и фосфора, общего азота и углерода, отмечено превышение на порядок содержания хлорид-иона и на 3 порядка содержания нефтепродуктов (таблица 6.13, 6.14). Почва мелкодисперсного грунта была нейтральной – благоприятной средой для микроорганизмов.

Таблица 6.13 – Количественная характеристика образцов эксперимента

Образец	pH (вод.)	Cl ⁻ , мг/кг	SO ₄ ²⁻ , мг/кг	P ₂ O ₅ , мг/кг	K ₂ O, мг/кг	N, %	C, %
Фон	4,21±0,1	13±3	<240	180±40	250±40	0,21±0,04	5,2±0,5
Контроль	6,63±0,1	100±15	<240	113±23	27±5	0,021±0,006	1,6±0,4
Грунт + биогеосорбент 10%	6,87±0,1	460±50	<240	160±30	270±40	0,33±0,07	23,4±2,3

Окислительно-восстановительные ферменты (каталаза и дегидрогеназа) синтезируются микроорганизмами и корнями посеяных трав, поступая в почвенную среду. В загрязненном мелкодисперсном грунте (контрольный вариант) активно протекали биохимические процессы (таблица 6.15), что указывало на присутствие нефтеокисляющих микроорганизмов в образце. Ферментный пул образца с биогеосорбентом образовывался в результате клеточного метаболизма микроорганизмов самого грунта, биогеосорбента и

растительных клеток (таблица 6.14), поэтому каталазная и дегидрогеназная активность были выше, чем в контрольном образце и значительно повышались через 30 суток. Динамика этих процессов свидетельствовала об активных сукцессионных преобразованиях биотрансформации нефтяного загрязнения. Эффективность очистки составила 69 %. Разница достоверна при $p < 0,05$.

Таблица 6.14 – Ферментативная активность и содержание нефтепродуктов в образцах эксперимента

Образец	Дегидрогеназная активность мг формазана/1 г а.с.п.		Каталазная активность, мл KMnO_4 /1 г а.с.п		НП, мг/г	
	Сутки					
	0	30	0	30	0	30
Фон	3,5±0,17	0,17±0,01	0,015	0,015	0,210±0,08	0,08±0,03
Контроль	42,4±2,1	62,1±8,1	0,37±0,016	0,23±0,01	470±170	330±140
Грунт+ биогеосорбент 10% + травы	79,9±3,9	205,7±10,3	0,29±0,014	0,47±0,02	360±140	110±40

6.5.2.2. Изучение эффективности биодеструкции нефтепродуктов в грунте железнодорожного полотна с применением биогеосорбента

С целью изучения возможности использования разработанного биогеосорбента для очистки загрязненных грунтов железнодорожного полотна проводили лабораторное моделирование процесса.

Содержание НП в исходной необработанной пробе (Контроль) ПГС составляло 34 мг/г (таблица 6.15). Снижения содержания НП в контрольном образце в течение срока эксперимента не происходило. В остальных вариантах наблюдалась биодеструкция НП. В течение 6 часов сорбция и трансформация НП после внесения биогеосорбента происходила ($p < 0,05$) на 14,7 – 20,6 %. В последующие 3 и 30 суток в образцах с внесением биогеосорбента, происходило

постепенное снижение концентрации нефтепродуктов на 64,7 % (таблица 6.15). Несмотря на то, что глауконит содержит значительное количество биогенных элементов (подвижного калия, фосфора и микроэлементов), необходимых для жизнедеятельности иммобилизованных на нем микроорганизмов, высокое загрязнение грунта настолько подавляет рост клеток микроорганизмов, что элементов, входящих в состав глауконита может быть недостаточно и в таком случае необходим дополнительный источник питания в виде минеральных удобрений. Использование биогеосорбента в сочетании с минеральным удобрением, содержащим азот, калий и фосфор, привело к усилению процессов биодеструкции нефтепродуктов, эффективность очистки ПГС повысилась в 1,2 раза и составила ($p < 0,05$) 79 % за 30 суток относительно контроля (таблица 6.15).

Таблица 6.15– Изменение концентрации нефтепродуктов в пробах грунта в присутствии биогеосорбента, мг/г

Вариант эксперимента	6 часов	3 суток	30 суток
Контроль	34,0±14,0	32,9±13,7	33,1±13,9
ПГС + биогеосорбент	29,0±8,0	15,0±4,0	12,0±3,0
ПГС + биогеосорбент + NPK	27,0±8,0	16,0±4,1	8,0±1,8

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 6.

Выявлена возможность иммобилизации клеток альго-бактериально-дрожжевого консорциума на различных носителях: обезвоженном осадке активного ила, глауконитовом и аргиллитовом минералах, катионном полиакриламиде. Научно обоснованы преимущества глауконитового минерала с иммобилизованными на нем клетками альго-бактериально-дрожжевого консорциума: биодеструкция нефтепродуктов до 99 %, биоразлагаемость, отсутствие необходимости специализированной утилизации, носитель пролонгированного действия, обеспечивающий клеткам консорциума повышение стрессоустойчивости, что увеличивает срок хранения, а также снижает риски, связанные с условиями хранения.

ГЛАВА 7. ПОЛЕВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ. АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНО-ДРОЖЖЕВОЙ КОНСОРЦИУМ И БИОГЕОСОРБЕНТ ДЛЯ ТРАНСФОРМАЦИИ И БИОКОНВЕРСИИ УГЛЕВОДОРОДОВ

7.1. Опытные-промышленные испытания технологии очистки нефтесодержащих сточных вод на очистных сооружениях АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкара с применением альго-бактериально-дрожжевого консорциума

Несмотря на то, что загрязнение нефтепродуктами окружающей среды небольшими предприятиями незначительны, но в комплексе возникает проблема, поиск решения которой является особо актуальным. Так автомойки, автозаправки и иные аналогичные предприятия, в процессе своего производства образуют нефтесодержащие сточные воды. Одним из самых распространенных способов очистки является фильтрование с применением фильтрующих материалов (базальт, нетканное волокно), кварц, песок и пр. Стоки при такой очистке на выходе не соответствуют нормативам. Одним из решений доведения очистки сливающихся загрязненных вод может послужить внедрение биотехнологий с использованием микроорганизмов-нефтедеструкторов. Из возможных существующих методов оптимизации очистки стоков применяют насаждение непосредственно на фильтрующие материалы микроорганизмов-нефтедеструкторов, при наличии аэротенков – обновление активного ила вносимыми микроорганизмами или периодическое внесение микроорганизмов-деструкторов в отстойники очистных сооружений.

На очистных сооружениях ООО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкара собирается сточная вода со всего склада горючесмазочных материалов (ГСМ), загрязненная нефтепродуктами (авиационным керосином, отработанным маслом, бензином). В первом отсеке нефтепродукты создают пленку на поверхности воды до 3 см. С этого отсека экологами предприятия производится периодическое откачивание в кубовые емкости и отстаивание воды с целью отделения от всплывающих нефтепродуктов. Во втором отсеке менее загрязненная вода, ощущается стойкий запах нефтепродуктов. На поверхности рыжая пленка. Далее

вода проходит фильтрацию и на выходе сливается в ручей.

Микроскопирование проб воды в начале эксперимента после внесения альго-бактериально-дрожжевого консорциума показало наличие в них небольшого количества бактерий, дрожжей (титр клеток 10^4 КОЕ/мл).

Микроскопирование проб воды в конце эксперимента спустя 60 суток показало наличие микроводорослей (титр клеток 10^6 кл/мл), множества разрушенных клеточных мембран, обнаружены дрожжевые клетки, некоторое количество бактерий консорциума (титр клеток 10^6 КОЕ/мл).

Деструктивные процессы очистки сточной воды оценивали по индикаторному ферменту – дегидрогеназной активности и остаточному содержанию нефтепродуктов.

При внесении консорциума в сточную воду активность процессов дегидрирования усиливалась за счет жизнедеятельности бактерий, дрожжей и микроводорослей консорциума, окисляющих нефтепродукты (таблица 7.1). В конце эксперимента биологическая активность снижалась.

В пробе 2 (таблица 7.1) снижению содержания НП в 6,5 раз от начальной концентрации способствовало не внесение консорциума, а перемешивание воды и распределение нефтепродуктов по всей толще отсека в процессе аэрации с помощью насоса. Аэрирование также способствовало активизации клеток альго-бактериально-дрожжевого консорциума. Оценку влияния штаммов микроорганизмов на очистку сточной воды от нефтепродуктов провели спустя 60 суток от начала эксперимента. Эффективность очистки воды составила 91 % (таблица 7.1).

Таблица 7.1 – Степень биодegradации НП и дегидрогеназная активность в сточной воде ООО «КомиАвиаТранс»

Пробы	Дегидрогеназная активность, мг формазана/ 1 см ³ сточной воды	НП, мг/дм ³
1	0,36±0,015	850±85
2	1,08±0,05	130±16
3	0,01	78±19

Таким образом, в условиях опытно-промышленного эксперимента показана возможность оптимизации технологии очистки нефтесодержащих сточных вод склада ГСМ ООО «КомиАвиаТранс» путем внесения альго-бактериально-дрожжевого консорциума один раз в летний период.

7.2. Опытнo-промышленные испытания технологии очистки нефтезагрязненной жидкости шламового амбара с применением биогеосорбента

Водные ресурсы, особенно такой ресурс как пресная вода, являются одним из основных и, к сожалению, динамичных элементов природного богатства мира в целом. Проблема загрязнения океанов и морей была осознана мировой общественностью и на международном уровне даже раньше, чем она стала одной из актуальных экологических проблем суши (Иванова и др., 2018).

Загрязнение пресной воды опасно не только для наземных растений и животных, но и для человека. Развиваются тяжелые заболевания, возрастает уровень смертности. В зависимости от индекса загрязнения воды, определяют сферу использования водных ресурсов. Определяющие показатели: уровень кислотности; превышение предельно-допустимых концентраций по вредным компонентам; наличие патогенных микроорганизмов; характеристики цвета и мутности; радиоактивное загрязнение воды.

Водный образец нефтесодержащей жидкости, отобранной со шламового

амбара имел средний уровень нефтяного загрязнения. По показателю рН анализируемые образцы воды характеризовались как кислые. Наблюдалась высокая степень насыщения сульфатами и поверхностно активными веществами анионноактивными (таблица 7.2).

Таблица 7.2 – Результаты количественного химического анализа воды, отобранной со шламового амбара

Наименование компонентов	Единицы измерения	Дата отбора проб	ПДК, мг/см ³ (ГОСТ..., 2012)	Показатели
Нефтепродукты	мг/дм ³	14.09.2020	0,05	69±17,0
рН			4>рН>12.5	3,84±0,2
Взвешенные вещества (ВВ)			200	500
Запах	Баллы при 20±1 при 60±2		Отсутствие запаха нефтепродуктов	Нефтяной 3 4
Цветность	Градусы цветности		От бесцветной до желтоватой	210±20
Перманганатная окисляемость			15	17,0±2,0
NO ₃ ⁻	мг/дм ³		0,5	<0,044
SO ₄ ²⁻	мг/дм ³		0,5	2,73±0,66
PO ₄ ³⁻	мг/дм ³		0,1	0,06
Cl ⁻	мг/дм ³		0,5	<0,5
Pb	мкг/дм ³		30	<4,0
Zn	мкг/дм ³		1000	2030±600
АПАВ	мг/дм ³		Стойкость пены - не более 2 мин Не более 0,5	3,3±0,8

Целью биологической рекультивации данного объекта было очистить нефтесодержащую жидкость от нефтепродуктов и довести ее до норм ПДК, соответствующих для технической воды, предназначенной в употреблении для строительных растворов (ГОСТ..., 2012).

Предварительно были проведены лабораторные испытания с жидкостью со шламового амбара с применением биогеосорбента для разработки проекта технологии очистки нефтешламового амбара на месте. Результаты анализов представлены в таблице 7.3. Изменение рН жидкости после очистки в нейтральную, снижение содержания НП и других показателей (ВВ, перманганатная окисляемость, АПАВ, Zn) до уровня ПДК дало возможность внесение технологии очистки с применением биогеосорбента в проект рекультивации шламового амбара и применение ее в полевых экспериментах.

После обезвреживания нефтезагрязненной воды со шламового амбара с помощью биогеосорбента эффективность очистки от нефтепродуктов составила 99% (таблица 7.4) по сравнению с первоначальными результатами (таблица 7.2). Остальные показатели снизились до нормативов воды для бетонов и строительных растворов (таблица 7.4). Процессы дегидрирования в воде подтверждали эффективность очистки (таблица 7.5).

Таблица 7.3 – Результаты количественного химического анализа воды, после биологической очистки. Лабораторный эксперимент.

Наименование компонентов	Единицы измерения	ПДК, мг/см ³ (ГОСТ..., 2012)	Показатели
Нефтепродукты	мг/дм ³	0,05	0,56±0,014
рН		4>рН>12,5	6,9±0,2
Взвешенные вещества		200	0,6±0,13
Запах	Баллы при 20±1 при 60±2	Отсутствие запаха нефтепродуктов	Затхлый 1 2
Цветность	Градусы цветности	От бесцветной до желтоватой	24±5
Перманганатная окисляемость		15	6,7±0,7
NO ₃ ⁻	мг/дм ³	0,5	0,21±0,06
SO ₄ ²⁻	мг/дм ³	0,5	30±4
PO ₄ ³⁻	мг/дм ³	0,1	0,19±0,05
Cl ⁻	мг/дм ³	0,5	17,9±2,3
Pb	мкг/дм ³	30	<4,0
Zn	мкг/дм ³	1000	68±16
АПАВ	мг/дм ³	Стойкость пены - не более 2 мин Не более 0,5	0,10±0,03

Таблица 7.4 – Результаты количественного химического анализа воды после биологической очистки с применением биогеосорбента.

Наименование компонентов	Единицы измерения	ПДК, мг/см ³ ГОСТ 23732-2011. Вода для бетонов и строительных растворов.	Показатели	
			Промежуточные	Окончательные
Нефтепродукты	мг/дм ³	0,05	0,95±0,24	0,023±0,008
рН		4>рН>12,5	4,0±0,2	5,5±0,2
Взвешенные вещества (ВВ)		200	-	6,4±1,1
Запах	Баллы при 20±1 при 60±2	Отсутствие запаха нефтепродуктов	Нефтяной 2 3	Без запаха 0 0
Цветность	Градусы цветности	От бесцветной до желтоватой	104±10	45±9
Перманганатная окисляемость		15	63±6	9,9±1,0
NO ₃ ⁻	мг/дм ³	0,5	3,8±0,8	<0,001
SO ₄ ²⁻	мг/дм ³	0,5	6,3±0,9	0,5
PO ₄ ³⁻	мг/дм ³	0,1	2±0,4	<0,05
Cl ⁻	мг/дм ³	0,5	7,5±1,0	0,5
Pb	мкг/дм ³	30	<4,0	<4,0
Zn	мкг/дм ³	1000	1700±300	<5,0
АПАВ	мг/дм ³	Стойкость пены - не более 2 мин Не более 0,5	1,05±0,25	<0,025

Таблица 7.5 – Дегидрогеназная активность образцов воды до и после очистки с помощью биогеосорбента

Проба воды	Дегидрогеназная активность, мг формаза/1 мл
До биологической очистки	0,28±0,01
После биологической очистки. Лабораторный эксперимент	1,0±0,05
После биологической очистки с применением биогеосорбента. Промежуточный образец	0,97±0,04
После биологической очистки с применением биогеосорбента	0,02

Таким образом, несмотря на то, что комплекс работ согласно разработанному проекту очистки загрязненной воды нефтепродуктами шламового амбара был осуществлен в октябре при температуре от -3 °С до +5 °С, технология использования биогеосорбента хорошо зарекомендовала себя при очистке воды и доведения ее до норм ПДК.

7.3. Опытно-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов с применением биогеосорбента на территории Ямало-Ненецкого автономного округа в районе кранового узла «Новый Уренгой – Сургут» (ОПИ-1)

Для оценки влияния нефтяного загрязнения на почвенные экосистемы применяют систему контроля абиотических и биотических параметров, которые более полно отражают картину последовательных процессов самовосстановления и биовосстановления почв (Мелехина и др., 2015).

Участок, нарушенный в процессе контаминации газOLIном был сильно обводнен. Газолин - это смесь лёгких жидких углеводородов, получаемая при перегонке нефти или при разделении промышленных газов. Газолин имеет

свойство испаряться и имеет крайне высокую летучесть.

В соответствии с нормативными требованиями уровень допустимого после рекультивации содержания нефтепродуктов в почве устанавливаются региональными нормативами ДОСНП (при наличии в регионе). В ЯНАО нормативы приняты постановлением Администрации от 15 декабря 2011 г. №293-п (Об утверждении..., 2020). В соответствии с нормативом уровень остаточного загрязнения после проведения рекультивации составляет для торфяно-болотных верховых и торфяно-болотных низинных почв (Зона 02 тундровая и лесотундровая подзона: почвы субарктической поймы р. Печоры. Категория земель: земли промышленности (в том числе промышленные площадки) – 10 г/кг, органо-минеральных почв и минеральных грунтов – 5 г/кг. Допускается превышение не более 10 г/кг для торфяно-минеральных грунтов для площади не более 10% от общей площади поражения. ПДК хлоридов в почвах составляют 360 мг/кг, сульфатов – 160 мг/кг.

Загрязнение на всех участках промышленного эксперимента было нефте-сульфатное. Содержание хлоридов в пробах участков не превышало ПДК (таблица 7.6). Содержание сульфатов превышало нормы ПДК в 1,5 раза. Наиболее засоленным был участок 1, в почве которого содержание сульфатов в верхнем горизонте превышало нормы в 3 раза (таблица 7.6). Участки характеризовались высоким содержанием нефтепродуктов, превышающим уровень ДОСНП в 2 и более раза.

После проведения рекультивационных мероприятий с применением технологии внесения биогеосорбента в почву загрязненной территории произошло снижение содержания нефтепродуктов до нормативно допустимых на участках 1, 2, 4 (таблица 7.6). Эффективность очистки (средняя по всем участкам) составляла 68 %.

Загрязнение сульфатами оставалось на прежнем уровне, за исключением пробы, отобранной с участка 1. В почве пробы 1 происходило снижение содержания сульфатов в 2 раза, но не достигало содержания ПДК (таблица 7.6).

Таблица 7.6 – Количественная характеристика проб почв участка промышленной рекультивации (ОПИ–1)

Проба почвы	Сутки	pH (вод.)	Cl ⁻ , мг/г	SO ₄ ²⁻ , мг/г	НП, мг/г
1	0	4,61±0,10	0,014±0,003	0,48±0,05	20,0±5
	60	4,50±0,10	<0,002	0,22	6,3±1,6
2	0	4,26±0,10	0,014±0,003	0,21	18,97±4,7
	60	4,91±0,10	<0,002	0,21	3,25±0,1
3	0	5,01±0,10	0,0085±0,0021	0,241±0,024	17,65±4,4
	60	5,07±0,10	0,012±0,0029	0,20	12±3,0
4	0	3,96±0,10	<0,002	0,20	19,98±5
	60	5,61±0,10	<0,002	0,20	4,25±0,1

Биохимические процессы в почве протекали активно (таблица 7.7). Изменение активности ферментов – каталазы, дегидрогеназы коррелировало с изменением содержания нефтепродуктов. За 60 суток произошло повышение биологической активности, что говорило о положительной динамике возврата почвенной микробиоты в исходное состояние.

Таблица 7.7 – Дегидрогеназная активность почв участков промышленной рекультивации с применением биогеосорбента (ОПИ–1)

Проба почвы	Дегидрогеназная активность, мг формазана / 1 г а.с.п.		
	Сутки		
	0	30	60
1	3,8±0,5	24±1,2	15,6±0,8
2	5,6±0,3	22±1,1	16,6±0,9
3	4,8±0,2	26±1,3	18,6±0,9
4	5,8±0,2	24,6±1,2	17,4±0,9

Таким образом, применение биогеосорбента в технологии промышленной рекультивации в районе кранового узла на 76 км трассы «Новый Уренгой –

Сургут» на территории Ямало-Ненецкого автономного округа способствовало активизации биохимического окисления в почве участка. Однако, эффективность очистки в почве участка ОПИ–1 за 60 суток была невысокой, что говорило о токсичности газаolina и, как следствие, о необходимости проведения на этом участке дополнительных биорекультивационных мероприятий: внесения кордревесной смеси, увеличения количества вносимого биогеосорбента.

7.4. Опытнo-промышленные испытания технологии очистки с применением биогеосорбента на территории Ханты-Мансийского автономного округа в районе трассы Лангепас-Покачи (ОПИ–2)

Фоновая проба почвы отбиралась в 100 м от автодороги и загрязненного участка, вне антропогенного воздействия, в лесном массиве, с горизонта 0-5 см и 5-50 см. На участке отбора фоновой пробы почв преобладали береза и ель, многолетняя трава – пушица. Местами можно было наблюдать лишайники.

Почва фоновой пробы отличалась повышенной кислотностью (0-5см) – рН 6,35, (5-50см) – рН 4,85. Была отмечена повышенная степень насыщенности основаниями в горизонтах фоновой почвы, что определяется средним и повышенным содержанием обменных катионов кальция (от 3,6 до 21,3 ммоль/100г почвы) и магния (от 1,31 до 5,6 ммоль/100г почвы). Верхняя толща, то есть 0-5 см, состояла только из гумусового профиля, содержание С – 16,2 %. Содержание нефтепродуктов в почве составляло 0,016 – 0,027 мг/г, что соответствовало региональному фону (О нормативе..., 2018).

Почва на загрязненном участке была пропитана нефтью, отсутствовал растительный покров. Почва экспериментального участка характеризовалась повышенной кислотностью, с преимуществом нефте-хлоридного загрязнения (таблица 7.8), что зачастую, является пусковым механизмом развития процесса осолонцевания почв (Габбасова и др., 2013).

Рост организмов в природных средах обычно ограничивается дефицитом биогенных элементов, азота и фосфора (Кузнецов и др., 2015), а также низким рН. В контрольном варианте отмечалось пониженное содержание подвижного

фосфора (таблица 7.8). Кислотность почвы в процессе самоочистки не изменилась. Содержание микроэлементов: кальция, магния, натрия и калия было достаточно для нормального функционирования почвенной микробиоты. Отношение C:N составляло свыше 30:1, азот становился лимитирующим фактором для построения микробного пула. Процессы дегидрирования при поступлении в почву нефтепродуктов подавлялись (таблица 7.9).

В период самоочищения (за 60 суток) в почве контрольного участка произошло частичное улетучивание в атмосферу легких фракций нефтепродуктов и пассивная очистка – биохимическое окисление углеводородов нефти за счет работы ферментов автохтонной микробиоты и внеклеточных ферментов, о чем свидетельствовало усиление процессов дегидрирования (таблица 7.9) и снижение содержания НП. Убыль НП в почве этого варианта составила 49 %.

Участки закладки эксперимента с применением методов биостимулирования и биоаугментации отличались разным содержанием нефтепродуктов (таблица 7.9).

Очистка загрязненных почв методом биостимулирования предусматривает проведение комплекса агротехнических мероприятий, стимулирующих активность аборигенных микроорганизмов (Кузнецов и др., 2015). В нашем случае, стимулирование почвенной микробиоты происходило либо за счет внесения только минеральных удобрений (вариант NPK), либо глауконита с минеральными удобрениями (вариант Глауконит).

Эффективность очистки от НП в варианте с использованием только минеральных удобрений составила 28 % (таблица 7.9). К концу эксперимента произошло снижение соотношения C:N, дегидрогеназной активности.

Самое высокое начальное загрязнение НП (6,8 мг/г) до биостимуляции было отмечено в почве варианта с внесением глауконита. Антропогенная нагрузка подавляла почвенную микробиоту. Богатый макро- и микроэлементами глауконит (SiO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , MnO , CaO , MgO , Na_2O , Ca , K_2O , Mg , P_2O_5 , Na , SO_3 , K) совместно с NPK для почвенных микроорганизмов явился дополнительным источником питания. Процессы дегидрирования усиливались (таблица 7.9), что

говорило об активной работе углеводородокисляющих микроорганизмов. Буферность глауконита привела к снижению хлоридов и высокой степени очистки почвы от нефтепродуктов, эффективность которой в этом варианте составила 65 % (таблица 7.8).

Изменения дегидрогеназной активности (таблица 7.9) в процессе биоремедиации подтверждали активные процессы нефтеокисления микроорганизмами. Эффективность очистки от НП составила 89 % (таблица 7.9). В этом варианте было отмечено незначительное снижение хлора, высокое содержание подвижного калия, как и в варианте с внесением глауконита (таблица 7.8). Подвижные формы фосфора повышались к концу полевого эксперимента.

Таблица 7.8 – Количественная характеристика проб почв участка промышленной рекультивации (ОПИ–2)

Сутки	pH (вод.)	pH (сол.)	Сухой остаток, %	НСО ₃ ⁻ , мг/кг	Сl ⁻ , мг/кг	SO ₄ ²⁻ , мг/кг	Ca (в.в.), мг/кг	Mg (в.в.), мг/кг
Контроль								
0	4,06±0,10	3,07±0,10	0,584±0,029	<80	2590±260	<240	320±40	88±09
60	4,13±0,10	3,12±0,10	0,79±0,06	240±40	2060±210	<240	270±30	69±07
NPK								
0	3,91±0,10	3,34±0,10	0,313±0,023	<80	1010±100	<240	128±16	<36
60	4,93±0,10	3,48±0,10	0,12±0,024	<80	189±28	<240	<100	<36
Глауконит								
0	3,92±0,10	3,56±0,10	0,32±0,024	<80	1330±130	<240	165±21	42±04
60	4,84±0,10	3,61±0,10	0,119±0,024	<80	210±30	<240	<100	<36
Биогеосорбент								
0	4,31±0,10	3,45±0,10	0,20±0,04	<80	720±70	<240	117±15	<36
60	4,48±0,10	3,38±0,10	0,15±0,03	<80	380±40	<240	<100	<36

Продолжение таблицы 7.8

Сутки	К (в.в.), мг/кг	Na (в.в.), мг/кг	K ₂ O, мг/кг	P ₂ O ₅ , мг/кг	N, %	C, %
Контроль						
0	63±6	>1000	90±14	16±6	1,33±0,15	43,6±1,5
60	80±8	1010±80	151±23	13±5	1,54±0,17	50,2±1,8
НРК						
0	28,3±2,8	490±40	120±18	105±21	0,68±0,07	24,0±2,4
60	<20,0	132±10	117±18	190±40	0,28±0,06	7,0±0,7
Глауконит						
0	25,3±2,5	520±40	98±15	32±6	0,71±0,08	21,1±2,1
60	<20,0	128±10	133±20	29±10	0,28±0,06	6,8±0,7
Биогеосорбент						
0	19,7±2	296±22	105±16	51±10	0,35±0,07	8,6±0,9
60	<20,0	206±15	138±21	62±12	0,35±0,07	9,0±0,9

Таблица 7.9 – Дегидрогеназная активность и содержание НП в почве до и после ОПИ–2

Сутки	Дегидрогеназная активность, мг формазана / 1 г а.с.п.	НП, мг/г
Контроль		
0	3,79±0,19	3,9±1,1
3	3,81±0,19	Не определяли
60	8,35±0,40	2,0±0,6
НРК		
0	2,83±0,14	3,2±0,9
3	9,56±0,48	Не определяли
60	4,75±0,23	2,3±0,7
Глауконит		
0	2,53±0,12	6,8±2,0
3	16,34±0,8	Не определяли
60	17,9±0,9	2,3±0,7
Биогеосорбент		
0	5,46±0,3	6,6±2,0
3	14,88±0,24	Не определяли
60	6,33±0,3	0,72±0,2

Таким образом, оценка изменения агрохимических параметров в результате активирования биохимических процессов с помощью разных методов показала преимущество биоаугментации с применением биогеосорбента по сравнению с методом биостимуляции с внесением минеральных удобрений или глауконита на экспериментальном участке ОПИ–2.

7.5. Опытнo-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории насосной подстанции предприятия АО «КомиАвиаТранс» г. Сыктывкар с применением биогеосорбента (ОПИ–3)

Фоновая проба почвы отбиралась в 100 м от загрязненного керосином участка, вне антропогенного воздействия, с почвы, покрытой растительностью, с горизонта 0-15 см. На участке отбора фоновой пробы почв преобладали тысячелистник, овсяница, подмаринник мягкий, чина луговая, щавель кислый, мятлик. Почва фоновой пробы была нейтральной (таблица 7.10), содержание хлоридов и сульфатов было невысоким, в пределах ПДК. Степень обеспеченности подвижным фосфором в фоновой почве повышенная, калием – средняя. Содержание НП в пределах ДОСНП.

Снижение содержания нефтепродуктов происходит в результате физико-химических и микробиологических процессов их разрушения и минерализации, перевода в нерастворимые или малоподвижные формы. Для ускорения процесса нефтеокисления в почву площадок эксперимента были внесены минеральные удобрения (метод биостимуляции) и биогеосорбент (метод биоаугментации).

Начальное содержание НП почве площадок эксперимента было одинаковое в пределах погрешности (таблица 7.11). Кислотность почвы ближе к нейтральной, несколько закислена на участке применения минеральных удобрений, и за счет пониженной рН доступность микро- и макроэлементов уменьшалась. Содержание хлоридов и сульфатов в почве площадок с применением метода биостимуляции (НРК), и с применением биогеосорбента (метод биоаугментации), было невысоким, в пределах ПДК. Содержание подвижного фосфора и калия было средним для почвы с применением минеральных удобрений. Почва, в которой применяли метод биоаугментации отличалась низким содержанием подвижного фосфора, что могло негативно повлиять на обеспеченность фосфором микроорганизмов, вносимые в составе биогеосорбента.

Внесение удобрений стимулировало почвенную микробиоту, активизировало процессы дегидрирования (таблица 7.11), что в результате привело к эффективности очистки на 34 % за 60 суток.

Активизация почвенной микробиоты удобрениями и микроорганизмы биогеосорбента на площадке применения метода биоаугментации стимулировали биохимические процессы нефтеокисления (таблица 7.11), и спустя 60 суток эффективность очистки составила 81 %. В последующий год на участках наблюдалось зарастание травами (тысячелистник, овсяница, подмаринник мягкий, чина луговая, щавель кислый, мятлик).

Таблица 7.10 – Количественная характеристика проб почв участка промышленной рекультивации (ОПИ–3)

Сутки	pH (вод.)	Cl ⁻ , мг/кг	SO ₄ ²⁻ , мг/кг	P ₂ O ₅ , мг/кг	K ₂ O, мг/кг
Фон					
0	7,2	10,1±1,0	130	107±21	108±15
NPK					
0	5,74	13±1,2	140	86±17	113±17
60	5,73	8,4±1,0	136	79±15	107±15
Биогеосорбент+ NPK					
0	6,29	17±1,8	160	48±11	118±18
60	6,3	6,5±0,6	154	42±9	124±19

Таблица 7.11– Дегидрогеназная активность и содержание НП в почве

Сутки	Дегидрогеназная активность, мг формазана / 1 г а.с.п.	НП, мг/г
Фон		
0	85,9±4,3	0,1
NPK		
0	16±0,8	32,0±9,6
3	11,8±0,6	Не определяли
60	11,3±0,6	21,2±6,4
Биогеосорбент+ NPK		
0	106,5±5,3	32,0±9,6
3	140,2±2,0	Не определяли
60	39,5±1,9	6,08±1,8

Таким образом, сравнительная оценка биохимических процессов и эффективности очистки от НП с применением разных методов показала преимущество биоаугментации (внесение биогеосорбента + NPK) по сравнению с методом биостимуляции (внесение NPK) на экспериментальном участке ОПИ–3.

7.6. Опытные-промышленные испытания технологии очистки почвы от нефтепродуктов на территории Республики Коми, п. Ярега в районе демонтированного резервуарного парка с применением биогеосорбента (ОПИ–4)

Фоновая проба почвы была отобрана в 200 м от загрязненного участка на не загрязненной нефтью территории, покрытой смешанным березово-сосновым лесом. Фрагменты мохового и лишайникового покрова представлены видами рода *Polytrichum*, *Hylicomium*, преобладали многолетние травы (родов *Carex*, *Cirsium*, *Deschamsia*, *Trifolium*). Содержание хлоридов и сульфатов фоновой почвы было

невысоким, в пределах ПДК, содержание НП в пределах ДОСНП.

Дегидрогеназная активность в почве была высокой, к 14 суткам процессы дегидрирования усиливались на порядок и далее к 60 суткам эксперимента происходило их снижение (таблица 7.13), что указывало на микробную сукцессию в очищаемой почве. Эффективность очистки за 60 суток составила 92-95 %. Проектное покрытие высеянными травами рекультивированного участка через 60 суток после посева трав составило 85%, что характеризовало очищенную почву, как не токсичную для роста и развития злаков.

Таблица 7.12 – Количественная характеристика проб почв участка промышленной рекультивации (ОПИ–4)

Проба почвы	Сутки	pH (вод.)	Cl ⁻ , мг/кг	SO ₄ ²⁻ , мг/кг	НП, мг/г
1	0	7,17±0,2	143±15	140	9,0±4,0
	60	7,50±0,2	77±7	140	0,48±0,14
2	0	6,86±0,2	55±6	154	10,0±4,0
	60	6,91±0,2	95±10	140	0,36±0,1
3	0	7,32±0,2	172±17	140	11,0±4,0
	60	7,07±0,2	70±7	136	0,51±0,15
4	0	6,97±0,20	67±7	145	16,0±7,0
	60	6,61±0,2	31±4	142	0,44±0,13

Таблица 7.13 – Дегидрогеназная активность почв участков промышленной рекультивации с применением биогеосорбента (ОПИ–4)

Проба почвы	Дегидрогеназная активность, мг формазана / 1 г а.с.п.		
	Сутки		
	0	14	60
1	18,6±0,93	137±6,8	88,9±4,4
2	21,9±1,11	129±6,4	96,2±4,6
3	21,7±1,05	120,9±6,0	82,7±4,0
4	16,5±0,78	127,7±6,4	85,5±4,1

Таким образом, применение биогеосорбента для очистки почвы от НП в районе кранового узла на территории Республики Коми, п. Ярега в районе демонтированного резервуарного парка способствовало активизации биохимического окисления в почве участка ОПИ–4, эффективность очистки составила до 95 %.

7.7. Щебеночный балласт. Биодеструкция и биоконверсия нефтепродуктов.

7.7.1. Очистка щебеночного балласта от нефтепродуктов

Щебеночный балласт, получаемый из прочных магматических пород, является лучшим из современных балластных материалов (Jing et al., 2020). При эксплуатации железной дороги происходит загрязнение щебеночного балласта органо-минеральными веществами. Наиболее распространёнными загрязнителями балластного слоя являются органические, в том числе нефть, нефтепродукты, мазут, топливо, смазочные материалы. Содержание органических загрязнений варьирует в диапазоне значений от 5 до 20 г/кг грунта. Для механической очистки на полигонах может применяться высокопроизводительная щебнеочистительная машина (ЩОМ-1400) (Федасов, 2021). В этом случае органические загрязнители не полностью удаляются со щебня. Альтернативой

механической очистке щебеночного балласта может послужить биологическая обработка с помощью микроорганизмов-деструкторов.

Консорциум и активированный биогеосорбент (замачивание на сутки в воде с небольшим количеством поллютанта) активно экстрагировали нефтяное загрязнение с поверхности щебня. Эффективность очистки щебеночного балласта составила 97 – 98 %.

Как при продолжительной экспозиции в роторе (72 ч), так и при небольшом промежутке времени (1 ч) происходит эффективная экстракция НП с поверхности щебеночного балласта в суспензию консорциума. Экстракция НП в суспензию активированного биогеосорбента эффективнее за 1 час, чем за 0,25ч (таблица 7.14).

Таблица 7.14 – Содержание НП в суспензиях, мг/г

Вариант	Время экспозиции в роторе, ч		Содержание НП в суспензии, мг/г
Суспензия консорциума	1		0,8
	72		1,8
Суспензия активированного биогеосорбента	0,25		0,19
	1		2,2

7.7.2. Биоконверсия отработанной суспензии в биодизель

Актуальным в настоящее время является вовлечение промышленных отходов в хозяйственный оборот в качестве вторичных сырьевых ресурсов (Ho et al., 2014; Ghosh et al., 2016), например, для выработки энергии из отходов производства для обеспечения работы местных коммуникаций (Gaul et al., 2013). Рациональным решением утилизации суспензии, содержащей НП, после очистки щебеночного балласта может стать технология получения биодизеля из липидных метаболитов, как накопленных микроорганизмами в процессе наработки биомассы на этом отходе. Определение экстрагированных ЖК в суспензии проводилось спустя 5, 60 минут, 9, 24 и 36 часов периодического перемешивания в роторе щебеночного балласта в биомассе альго-бактериально-дрожжевого консорциума, иммобилизованного на глауконите. Глауконит выступал в качестве катализатора для лучшего выхода масел в процессе биоконверсии углеводов (Gaide et al., 2021).

Важной характеристикой получаемого энергетического продукта является его выход от начальной биомассы суспензии (таблица 7.15). В ходе экспозиции в роторе было отмечено снижение биомассы суспензии. Максимальный выход биодизеля, определяемый как отношение массы метиловых эфиров ЖК к массе нейтральных липидов, выделенных из образца, составил 58 % в суспензии после 9 часов экспозиции, что свидетельствовало о высокой степени пригодности липидов. При этом содержание липидов в биомассе не претерпевало достоверных изменений в ходе эксперимента и варьировало в диапазоне 10,6 –12,2 %. Падение биомассы и столь низкое содержание липидов может объясняться значительным влиянием неблагоприятных факторов среды, препятствующим липогенезу в клетках.

Таблица 7.15 – Эффективность липогенезы в суспензии

Показатель	Время экспозиции				
	5 мин	60 мин	9 ч	24 ч	36 ч
Биомасса суспензии, г/дм ³	0,24±0,02	0,132±0,01 3	0,12±0,03	0,11±0,04	0,079±0,006
Содержание липидов, %	12,2±3	10,8±3,6	12±3	11,8±3	10,6±3,2
Выход биодизеля, %	36,3±6	54±14	58±9	31,0±6	39±4

Оценка изменений жирнокислотного состава имеет значение для прогнозирования качества и стабильности к хранению конечного продукта. Жиры, входящие в состав продукта, в наибольшей степени подвержены окислению по двойным связям, в результате которого меняется ненасыщенность жирных кислот. Показано, что суспензия содержит насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты с четным числом атомов углерода от C₁₂ до C₂₀ (таблица 7.16). Во всех экстрактах преобладала олеиновая кислота (C_{18:0} 46,65 – 69,7 % от суммарного содержания ЖК), содержание которой к 24 – 36 часам экспозиции щебеночного балласта в роторе уменьшалось. Напротив, наблюдалось увеличение содержания пальмитиновой (C_{16:0}) с 17,03 до 26,86 % и пальмитолеиновой (C_{16:1}) ЖК с 2,77 до 7,5 %.

Согласно литературным данным, содержание полиненасыщенных жирных кислот с 4 и более двойными связями не должно превышать 1,0 % от суммы ЖК, а количество линоленовой кислоты (C_{18:3}) не должно превышать 12 % (Сергеева и др., 2017).

На основе данных по жирнокислотному составу был рассчитан ряд параметров прекурсора биодизеля (таблица 7.17) (цетановое число, йодное число, теплота сгорания, вязкость и плотность), экстрагированных за 5, 60 мин, 9, 24 и 36 часов, рассчитанный на основе данных по жирнокислотному составу (Talebi et al., 2014).

Таблица 7.16 – Жирнокислотный состав и степень ненасыщенности прекурсоров в образцах суспензии

Компонент	Время экспозиции				
	5 мин	60 мин	9 ч	24 ч	36 ч
C _{12:0} , %	0,31	0,61	0,19	0,38	0,40
C _{14:0} , %	2,06	2,98	2,17	2,25	3,46
C _{15:0} , %	0,63	1,12	0,67	0,87	1,28
C _{16:0} , %	17,03	19,36	17,90	19,01	26,86
C _{16:1} , %	2,77	5,07	6,23	8,06	7,54
C _{17:0} , %	0,22	0,29	0,22	0,31	0,40
C _{18:0} , %	1,48	1,81	1,58	1,61	3,17
C _{18:1} , %	69,7	57,90	59,13	56,00	46,65
C _{18:2 (cis-cis)} , %	4,29	8,92	9,91	9,71	9,26
C _{18:3} , %	1,52	1,74	1,91	1,70	0,75
C _{20:0} , %	0,00	0,17	0,10	0,10	0,22
Насыщенные ЖК, %	21,73	26,34	22,83	24,53	35,80
Мононенасыщенные ЖК, %	72,47	62,97	65,36	64,06	54,19
Полиненасыщенные ЖК, %	5,81	10,66	11,82	11,41	10,01

Таблица 7.17 – Ключевые параметры прекурсора биодизеля, полученного из различных экстрактов суспензии

Показатель	Время экспозиции				
	5 мин	60 мин	9 ч	24 ч	36 ч
Цетановое число	55,7	55,3	54,4	54,7	57,2
Йодное число, г/100г	77,4	78,1	82,6	80,1	68,3
Теплота сгорания, МДж/кг	39,48	39,41	39,44	39,42	39,37
Вязкость (ν), мм ² /с	3,92	3,83	3,84	3,81	3,81
Плотность (ρ), г/см ³	0,87	0,87	0,88	0,88	0,87

Общую ненасыщенность жира принято характеризовать величиной

йодного числа (ЙЧ), которая выражается в массе йода (в г), присоединяющейся к 100 г жира (органического вещества). Чем выше концентрация ненасыщенных жирных кислот, тем выше значение ЙЧ. ЙЧ определяют в европейской спецификации по EN 14111 как меру брутто-содержания ненасыщенных соединений. Верхний предел ЙЧ г I₂ на 100 г составляет 120 (Lapuerta et al., 2015; Mohd Noor et al., 2018). Биодизель, ЙЧ которого превышает 120 более восприимчив к окислению.

Полученные результаты показали, что величина ЙЧ биодизеля, полученного из образцов эмульгированной суспензии, накопленных за 5, 60 ч, 9, 24 и 36 суток не превышала верхний предел (таблица 7.17).

Биодизель должен соответствовать по **цетановому числу (ЦЧ)**. Чем ниже ЦЧ топлива, тем больше задержка его воспламенения. Применение топлив с ЦЧ ниже 40 приводит к жесткой работе двигателя. При увеличении ЦЧ период задержки воспламенения становится короче, более плавно нарастает давление и снижается его максимальное значение, увеличивается доля топлива, сгораемого во второй фазе. Снижается удельный расход топлива и уменьшается содержание продуктов сгорания в отработавших газах вследствие увеличения скорости сгорания во всех фазах (Морозов и др., 2016). Однако, повышение ЦЧ до 65 и выше ухудшает экономичность двигателя 0,2–0,3 %, увеличивает дымность. Исследования последних лет показали, что наилучшим является топливо с ЦЧ 50–65 (Chong et al., 2020). Стандарту топлива по ЦЧ соответствовали все образцы эмульгированной суспензии, не зависимо от времени накопления (таблица 7.17).

В таблице 7.18 приведена сравнительная характеристика ЦЧ полученного нами продукта (топлива эмульгированной суспензии альго-бактериально-дрожжевого консорциума) с существующими стандартами дизельного и биодизельного (EN14214) топлива, биодизельного топлива из рапса, из липидов мукорового гриба *Cunninghamella japonica*. Цетановое число биодизеля, полученного из эмульгированной суспензии альго-бактериально-дрожжевого консорциума не отличалось от ЦЧ топлив, полученных из мукорового гриба, льняного масла. Для выращивания энергетических злаков, используемых для

производства биодизеля, требуются большие земельные площади, частый севооборот (Prabha et al., 2021). Кроме того, применяется только масло семян, а большая часть биомассы растений не используется. Для выращивания мукоровых грибов требуется специальное оборудование и стерильные питательные среды (Лунин и др., 2013). Производство биодизеля путем биоконверсии жидких нефтяных отходов, в том числе отходов щебеночного балласта с помощью микроорганизмов не требует выше перечисленных затрат и является одним из решений утилизации нефтяных отходов во вторичные продукты.

Теплота сгорания– физическая величина, показывающая какое количество теплоты выделяется при полном сгорании 1 кг топлива в кислороде. Она определяет энергию, которую сообщает топливо двигателю, и выражается в джоулях. Количество теплоты, выделяемое при сгорании топлива, зависит от химического состава, а, следовательно, от содержания в нем углерода и водорода (Ивашечкин, 2015). В требованиях европейских стандартов установлена минимальная граница теплоты сгорания – 35 МДж/кг. Теплота сгорания топлива всех образцов прекурсора биодизеля за 5, 60 минут, 9,24 и 36 часов полностью удовлетворяет требованиям стандарта EN 14214 (таблица 7.17).

Таблица 7.18 – Сравнительная характеристика топлива

Источник	ЦЧ	Ссылка
Традиционное дизельное топливо	47	Valentino et al., 2011
Биодизель (EN14214)	51	(Liquid..., 2012)
Льняное масло	54	Uyumaz, 2020
Биомасса мукорового гриба <i>C. japonica</i> F-1204 (-)	66	Rodrigues Reis et al., 2020
Эмульгированная суспензия альго-бактериально-дрожжевого консорциума, после экспозиции в роторе с щебеночным балластом	55,6-57,2	собственные данные

Кинематическая вязкость влияет на качество распыления топлива и размер капли. Стандарты биодизеля по кинематической вязкости составляют 3,5 – 5,0 mm^2/s . При превышении стандартов, топливо образует более крупные капли при впрыскивании, что приводит к неэффективному распылению, увеличению количества отложений в двигателе, повышению уровня энергии, необходимой для перекачки топлива, росту количества выхлопных газов и выбросов (Сергеева и др., 2017). Прекурсора биодизеля из эмульгированной суспензии альго-бактериально-дрожжевого консорциума соответствует стандартам кинематической вязкости (таблица 7.17).

Плотность влияет на массу топлива, впрыскиваемого в камеру сгорания, и на соотношение в ней воздух : топливо. В Требованиях европейского стандарта EN 14213 установлена граница плотности биодизеля – $\rho=0,85\text{--}0,9 \text{ g/mL}$. Поскольку подача топлива насосом определяется его объемом, а не массой, то впрыск топлива с большей плотностью обеспечивает доставку в двигатель большей массы топлива (Сергеева и др., 2017). Как следует из результатов расчета (таблица 7.17), плотность биодизеля, полученного на основе образцов прекурсора биодизеля соответствовала стандартам.

Таким образом, цетановое число, йодное число, теплота сгорания, вязкость и плотность полученных прекурсоров биодизеля не зависимо от времени экспозиции соответствовали требованиям европейского стандарта EN 14214 и межгосударственным стандартам ГОСТ 33131 – 2014.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 7.

Таким образом, в результате проведения опытно-промышленных испытаний установлено, что выделенные и изученные микроорганизмы-нефтедеструкторы (*Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024) в свободной и иммобилизованной форме могут быть использованы для очистки от нефти и нефтепродуктов водных объектов, почв, грунтов, щебеночного балласта, а также для получения вторичного сырья – липидных метаболитов – источников биодизеля.

Данные, полученные в лабораторных и полевых экспериментах, были использованы для разработки технологий получения и применения биопрепарата и биогеосорбента.

ГЛАВА 8. ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОПРЕПАРАТА «БИОТРИН» И БИОГЕОСОРБЕНТА «ГЕОЛЕКС»[®]

В результате проведенных исследований были разработаны биопрепарат «БИОТРИН» (альго-бактериально-дрожжевой консорциум) и биогеосорбент «ГЕОЛЕКС»[®].

8.1. Описание биопродуктов

8.1.1. Описание биопрепарата «БИОТРИН»

Биопрепарат «БИОТРИН» - биотехнологический нетоксичный продукт, обладающий высокой деструктивной активностью в отношении органических загрязнителей природы, в частности нефти и нефтепродуктов.

Состав биогеосорбента «БИОТРИН»

Биопрепарат «БИОТРИН» состоит из:

- бактерий *Pseudomonas yamanorum* VKM В-3033D, выделенных из сильно загрязненного грунта железнодорожного полотна в районе г. Сыктывкар;
- дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, выделенных из нефтяного шламонакопителя Усинского района Республики Коми;
- микроводорослей *Chlorella vulgaris* IPAS С-2024, выделенных из почвы на стоянке оленеводов в Приполярном.

Выпускается в форме жидкой суспензии светло-коричневого цвета, титром клеток – 10^{10} - 10^{12} КОЕ/мл.

На биопрепарат «БИОТРИН» имеются технические условия (Приложение 9).

8.1.2. Описание биогеосорбента «ГЕОЛЕКС»[®]

Биогеосорбент «ГЕОЛЕКС»[®] - биотехнологический нетоксичный самоутилизируемый продукт, обладающий высокой поглощающей способностью и деструктивной активностью в отношении органических загрязнителей природы, в частности нефти и нефтепродуктов. Защищен товарным знаком (Приложение 4)

Состав биогеосорбента «ГЕОЛЕКС»[®]:

1. В состав биосорбента «ГЕОЛЕКС[®]»[®] входит биопрепарат «БИОТРИН», состоящий из нетоксичных природных штаммов микроорганизмов, депонированных во Всероссийской Коллекции Микроорганизмов и в Институте физиологии растений.

2. Глауконит Бондарского месторождения Тамбовской области «IonsorbTM» - минеральный ионит, получаемый из комплекса алюмосиликатов, по авторской технологии (Премия Роснедра и РосГео: «За достижения в решении фундаментальных и прикладных проблем геологии», за 2010 г.).

В зависимости от поставленной задачи на глауконит наносят те или иные штаммы представленных микроорганизмов.

3. В состав препаратов вместе с действующими микробными штаммами входит незначительное количество компонентов сред для их выращивания.

Биогеосорбент представляет собой сухой сыпучий препарат светло-зеленого цвета.

8.1.3. Безопасность. Сертификация

Штаммы, входящие в состав биогеосорбента исследованы на патогенность, токсичность и токсигенность в научно-исследовательском центре токсикологии гигиенической регламентации биопрепаратов ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России». Получено заключение и протоколы испытаний (Приложение 5, 6). На основании протоколов получен Экологический сертификат соответствия № ESTD4.B002.AB054 (Приложение 7, 8).

8.1.4. Техническая документация

На биогеосорбент «ГЕОЛЕКС[®]» имеется следующая техническая документация:

1. Технические условия ТУ 39.00.11-001-24941753-2017 (Приложение 10).
2. Инструкция на применение биогеосорбента
3. Технологические карты.
4. Паспорт безопасности.

8.1.5. Результаты интеллектуальной собственности

Разработка защищена патентами:

1. Патент РФ №2615458 2017г.

Штамм бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D для активизации биодеструкции нефти и нефтепродуктов в воде, а также в масляных грунтах на участках железной дороги (Приложение 18).

2. Патент РФ № 2658134 2018г.

Штамм дрожжей *Rhodotorula glutinis* для очистки нефтезагрязненных почв, водоемов и сточных вод от нефтяных углеводородов, в том числе для окисления полиароматических соединений (Приложение 19).

3. Патент РФ № 2703490 2019г.

Штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer.f. *globosa* V. Andr. для очистки природных водоемов и сточных вод промышленных предприятий (Приложение 20).

4. Патент РФ № 2556126 2015г.

Питательная среда Люка для культивирования микроводорослей (Приложение 21).

5. Патент РФ № 2703500 2019г.

Нефтеокисляющий биопрепарат, биосорбент на его основе и способ его приготовления (Приложение 22).

6. Патент РФ № 2707815 2019г.

Средство для биодеструкции нефтепродуктов в загрязненных почвах (Приложение 23).

7. Патент РФ № 271162 2020г.

Способ очистки отходов щебневого балласта, применяемого на железной дороге (Приложение 24).

8. Патент РФ № 2764305 2022г.

Способ очистки почв от нефтяных загрязнений методом гидропосева с применением микроводорослей *Chlorella vulgaris globosa* IPPAS С-2024

(Приложение 25).

9. Патент РФ № 2774314 2022г.

Способ культивирования микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer.f. *globosa* V. Andr. IPPAS С-2024 в природных условиях с использованием воды из пруда (Приложение 25).

8.1.6. Основные научно-технические параметры биогеосорбента

«ГЕОЛЕКС®»

Таблица 8.1 – Основные научно-технические параметры биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»

Параметры	«ГЕОЛЕКС®»
Срок плавучести на поверхности, суток	60
Сорбционная нефтеемкость, кг (нефть/сорбент)	От 8/1
Биодеструктивная активность в аэробных условиях при температурах от +10°C до +25°C	65-98%
Биодеструктивная активность в аэробных условиях при температурах от 0°C до +10°C	60-70%
Биоразлагаемость	Да
Необходимость специализированной утилизации	Не требует

8.1.7. Назначение биопрепарата «БИОТРИН» и биогеосорбента

«ГЕОЛЕКС®»

Биопродукты предназначены:

1. Для очистки водных объектов (болот, прудов, озер, рек, морей, а также сточных вод промышленных предприятий) от загрязнений нефтепродуктами, фенолами.
2. Для очистки почв и грунтов, загрязненных нефтепродуктами (нефтью, дизельным топливом, бензином, отработанным маслом, газOLIном).
3. Для очистки грунта железнодорожного полотна от различных органоминеральных загрязнений.

4. Для очистки щебневого балласта железнодорожного полотна от нефтепродуктов и других органоминеральных загрязнений.
5. Для очистки площадок, грунтов предприятий от разлитых масляных пятен.
6. Для обезвреживания токсичных веществ ТБО и ТПО.

8.2. Технические условия на биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®»

для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв, грунтов и водных объектов

Разработаны и соответствующим образом зарегистрированы технические условия на биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®» для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв, грунтов и водных объектов (титр клеток от 10^8 до 10^{12}) (ТУ 39.00.11-001G-24941753-2017), которые состоят из следующих разделов:

1. Технические требования;
 - 1.1 Биосорбент «ГЕОЛЕКС®» – далее биогеосорбент и/или ГЕОЛЕКС® - должен производиться в соответствии с требованиям настоящих технических условий по технологическому регламенту предприятия-изготовителя с соблюдением установленных санитарных норм и правил;
 - 1.2 Требования к физико-химическим и микробиологическим показателям биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»;
 - 1.3 Требования к сырью и материалам;
 - 1.4 Основные параметры и свойства;
2. Требования к безопасности;
3. Правила приемки;
4. Методы отбора проб;
5. Методы испытаний;
 - 5.1 Определение внешнего вида и цвета;
 - 5.2 Определение содержания влаги;
 - 5.2.1 Аппаратура и реактивы;

- 5.2.2 Подготовка к испытанию;
- 5.2.3 Проведение испытания;
- 5.2.4 Обработка результатов;
- 5.3 Определение наличия посторонней микрофлоры;
- 5.4 Определение нефтеокисляющей активности биогеосорбента;
- 6. Упаковка, маркировка, транспортировка и хранение;
- 7. Гарантия изготовителя;
- 8. Указания к применению.

8.3. Технологическая схема полупромышленного производства биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»

На рисунке 8.1 приведена технологическая линия для получения биогеосорбента.

Приготовление биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» осуществляется следующим образом.

Инокулят штамма бактерий *P. yamanorum* 100 мл из емкости подают в ферментер (1) со стерильной и охлажденной питательной средой МПА (4,5 дм³). Параметры культивирования: температура 25 °С, перемешивание среды с помощью лопастной мешалки 150 об/мин, рН 6-7, аэрация через стерильный фильтр 0,5 дм³ воздуха на 1 дм³ культуральной жидкости. Культивирование жидкого препарата продолжается до 3 суток. Нарботанная культуральная жидкость должна иметь титр клеток 10¹² КОЕ/мл.

Инокулят штамма дрожжей *R. glutinis* 100 мл из емкости подают в ферментер (2) со стерильной и охлажденной питательной средой Чапека (4,5 дм³). Параметры культивирования: температура 25 °С, перемешивание среды с помощью лопастной мешалки 150 об/мин, рН 6-7, аэрация через стерильный фильтр 0,5 дм³ воздуха на 1 дм³ культуральной жидкости. Культивирование жидкого препарата продолжается до 5 суток. Нарботанная культуральная жидкость должна иметь титр клеток 10⁹ КОЕ/мл.

Инокулят микроводорослей *C.vulgaris* 100 мл из емкости подают в стеклянный хемостат объемом на 5 литров (3). Параметры культивирования: за

хемостатом располагают 6 люминесцентных ламп мощностью 20 Ватт каждая. Аэрирование с помощью насоса, подача углекислого газа 1 г/ литр /час из баллона (4) в течение трех суток. Температура 25-27 °С. Нарботанная культуральная жидкость должна иметь титр клеток 10^8 кл./мл.

Смешивание биомассы бактерий, дрожжей и в частном случае, микроводорослей происходит путем сливания через нижнюю часть ферментеров и хемостата в камеру смешения (5) и далее по трубам (6) происходит разбрызгивание биопрепарата «БИОТРИН» на носитель – минеральный ионит «Ionsorb™», который подается транспортной лентой (7) насыпной плотностью не толще 1 см. После высушивания биогеосорбент поступает в емкость для фасовки. Биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®» фасуют от 1 до 5 кг в мешки.

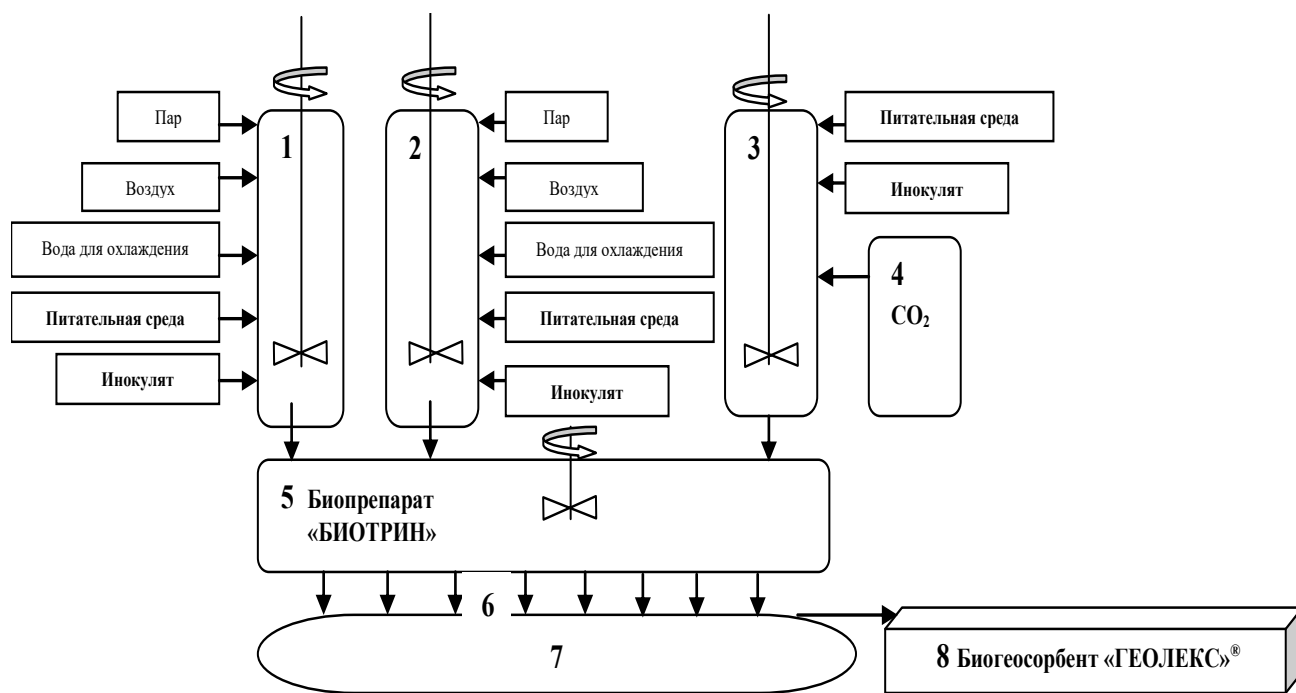


Рисунок 8.1 – Принципиальная технологическая схема полупромышленного производства биопрепарата «БИОТРИН» и биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®». 1 – ферментер для производства биомассы бактерий *P. yamanorum*; 2 – ферментер для производства биомассы дрожжей *R. glutinis*; 3 – хемостат для производства биомассы микроводорослей *C. vulgaris*; 4 – баллон с углекислотой; 5 – камера смешения; 6 – распылительные трубы; 7 – транспортная лента; 8 – емкость

фасовки биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®».

8.4. Технология применения биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»

Биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®» применяются на территории Российской Федерации. Разработана технология применения биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®», которая рекомендуется к использованию в следующих случаях:

1. Для очистки водных объектов (болот, прудов, озер, рек, морей, а также сточных вод промышленных предприятий) от загрязнений нефтепродуктами, фенолами, азотными соединениями.
2. Для очистки почв и грунтов, загрязненных нефтепродуктами (нефтью, дизельным топливом, бензином, отработанным маслом, газOLIном).
3. Для очистки грунтов, щебеночного балласта железнодорожного полотна от различных органоминеральных загрязнений.
4. Для очистки площадок, грунтов предприятий от разлитых масляных пятен.

Актуальное предложение в зимний период.

Биогеосорбент вносится на снег и лед зимой в недоступных в летнее время загрязненных нефтепродуктами территориях (болотах, водоемах), а также для обработки в зимний период аварийных площадей. Применение биогеосорбента обеспечивает:

- локализацию разливов;
- упрощение сбора разлитой нефти;
- блокировку распространения загрязнения при снеготаянии;
- предотвращает вторичное загрязнение, т.к. сорбированные биогеосорбентом «ГЕОЛЕКС®» нефтепродукты будут разложены иммобилизованными микроорганизмами.

Минеральный ионит является базой-транспортом микроорганизмов, сохраняющий их в анабиозе в неблагоприятных условиях (температура, влажность и т.д.). В период таяния снега и льда происходит активация ферментных систем углеводородокисляющих микроорганизмов биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®», начинается их динамичный рост и размножение за счет наличия

источника питания - нефтепродуктов, макро- и микроэлементов ионита. Вследствие интенсивного роста активности ферментов при повышении температуры нефтедеструкция происходит в 2 раза активнее, чем при внесении биогеосорбента в середине вегетационного периода.

Технология распространяется на биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®», включающий нефтеокисляющие микроорганизмы, выделенные из нефтезагрязненных почв, обладающие способностью разлагать углеводороды нефти и предназначенные для активизации процессов очищения нефтезагрязненных объектов (почвы, воды, нефтешламов), в том числе при проведении работ по рекультивации нефтезагрязненных земель.

Качество применяемого в соответствии с настоящей Инструкцией биогеосорбента должно соответствовать требованиям Технических условий № ТУ 39.00.11-001G-24941753-2017 на биогеосорбент для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв, грунтов и водных объектов «ГЕОЛЕКС®».

Правила применения

1.1. Нормы внесения

Нормы внесения биогеосорбента на нефтезагрязненную площадь рассчитывают исходя из результатов комплексной оценки состояния загрязненных участков, подлежащих очистке. Для такой оценки составляется почвенно-мелиоративная картограмма участка, проводится отбор проб с участка с учетом рельефа местности и площадного загрязнения, анализируется содержание нефтепродуктов в почве (воде) и рассчитывается среднее ее содержание на единицу площади и объема. Оценивается показатель потенциальной и актуальной активности почв с целью определения скорости очистки при тех или иных способах стимулирования, определяются агрохимические характеристики субстрата. От степени загрязнения, биологической активности субстрата, подлежащего восстановлению, зависят нормы вносимого биосорбента, а в зависимости от агрохимических характеристик, при наличии такой необходимости, подбираются оптимальные виды минеральных и/или органических удобрений.

Исходный титр штаммов микроорганизмов, нанесенных на сорбент составляет от 10^7 до 10^{12} живых клеток на 1 г., в зависимости от вида штамма. При таком титре рекомендованная на 1 га одноразовая норма биосорбента в зависимости от исходных характеристик почвы по уровню загрязнения и биологической активности может составлять от 6 до 30 кг.

1.2. Периодичность внесения биогеосорбента

Для получения максимального эффекта от биогеосорбента и с целью поддержания высокого титра нефтеокисляющих микроорганизмов в почве (суммарный титр нефтеокисляющих микроорганизмов должен составить после обработки почвы с учетом численности аборигенной нефтеокисляющей микробиоты не менее 10^8 живых клеток в.с.п.) обработку почвы проводят одно-двух-или трехкратно, в соответствии с технологическими картами (раздел 2).

1.3. Внесение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»

Этот вид обработки почвы разработан для упрощения процедуры обработки загрязненной нефтью почвы в случаях, когда применение метода дождевания затруднено (на труднодоступных, заболоченных территориях, или при большой площади участка). Биогеосорбент вносят с гидрофильным минеральным удобрением (например, с аммиачной селитрой) в смеси.

1.4. Правила применения

1.4. Для оптимизации внесения в загрязненную почву, зная необходимое количество биогеосорбента на обрабатываемую площадь (в соответствии с технологическими картами), биогеосорбент следует перед применением перемешать с минеральными удобрениями. На основании проведенных предварительных анализов загрязненной почвы выбирается удобрение и рассчитывается его количество. Желательно смешивать биогеосорбент и удобрение непосредственно перед самым применением.

1.4.2 Внесение биогеосорбента ведут вручную (как удобрение) равномерным нанесением на проблемные фрагменты (наиболее загрязненные) с площадки техники под фрезу.

1.4.3 Влажность для эффективной работы должна быть не меньше:

для торфяной почвы – 85%;

для суглинистой – 45%;

песчаной - 20%.

1.4.4 Уровень загрязнения почвы для эффективной работы микроорганизмов должен быть не более:

для торфа и плодородной почвы – 35%;

суглинистой, глины – 15%;

песка – 5%.

1.4.5 Во время обработки руки должны быть защищены резиновыми перчатками.

1.5. Расчетная эффективность

Эффективность использования препарата зависит от исходных характеристик нефтезагрязненного грунта – степени активности аборигенной микробиоты и концентрации загрязнения. Грунт, содержание в котором углеводородокисляющих микроорганизмов ниже 10^{3-4} , считается неактивным для осуществления процессов самоочищения. При внесении препарата концентрация углеводородокисляющих микроорганизмов в 1 г воздушно-сухой почвы (в.с.п.) увеличивается до 10^{7-9} . В этом случае процессы окисления углеводородов в почве по сравнению с контрольными нефтезагрязненными почвами увеличиваются в несколько раз. Так, если за счет естественного очищения почвы в среднем снижение концентрации нефти происходит на 5-10% в течении теплого периода года, то при использовании биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» эффект очистки составляет за этот же период (при условии соблюдения технологической схемы использования препарата) – 65-98%.

Технологические карты на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»

Технологические карты разработаны для дифференциации процедуры применения биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при очистке от нефтепродуктов почвы, воды, нефтешламов с отличающимися исходными концентрациями нефтяного загрязнения, состава очищаемого субстрата и их иных характеристик. Основные

параметры, учитываемые при очистке приведены в таблице 8.2.

Таблица 8.2 – Расчетные величины расхода биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» для очистки от нефтепродуктов почвы, воды и нефтешламов

Субстрат	Концентрация нефтяного загрязнения, мг/г (для почвы), или мг/дм ³ (для воды и жидкого нефтешлама)	Кратность обработки	Норма расхода на ед. площади (1,0 га) или объема для однократной обработки, кг/га (для почвы) или кг/м ³ (для воды и жидкого нефтешлама)	Периодичность обработки (дней)	Общий расход за весь период обработки	Номер технологической карты
Песок	10-20	1	6	14	6	П20
Песок	20-35	2	15	14	30	П35
Песок	35-50	3	30	14	90	П50
Глина	10-75	1	20	14	20	Г75
Глина	75-150	2	20	14	40	Г150
Торф	50-150	1	15	14	15	Т150
Торф	150-250	2	17	14	34	Т250
Торф	250-350	3	20	14	60	Т350
Н/шлам	100-200	1	0,1		0,1	Ш200
Н/шлам	200-250	1	0,2		0,2	Ш250
Н/шлам	250-300	1	0,3		0,3	Ш300
Н/шлам	300-350	1	0,4		0,4	Ш350
Вода	0,5-5	1	0,05		0,05	В5
Вода	5-25	2	0,1		0,2	В25

**Технологическая карта П20 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами песчаных почв с уровнем загрязнения от 10 до 20 мг/г (таблица 8.3, 8.4).

Таблица 8. 3 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Песок
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	10-20 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	От нормальной до избыточной
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.4 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
1. Однократное внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений		
Биогеосорбент	кг	6,0×1= 6,0
Минеральное удобрение	кг	100
2. Одно-двукратная механическая обработка почвы техникой	га	1×2=2

**Технологическая карта П35 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами песчаных почв с уровнем загрязнения от 20 до 35 мг/г (таблица 8.5, 8.6).

Таблица 8.5 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Песок
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	20-35 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	От нормальной до избыточной
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.6 – Организация и технология применения биогеосорбента

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
Двукратное внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений с использованием техники		
Биогеосорбент	кг	15,0×2 = 30,0
Нитроаммофоска, азофоска	кг	150×2 = 300

Технологическая карта П50 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении нефтезагрязненных земель

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами песчаных почв с уровнем загрязнения от 35 до 50 мг/г (таблица 8.7, 8.8).

Таблица 8.7 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Песок
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	35-50 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	От нормальной до избыточной
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.8 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
1. Трехкратное (через каждые 14-21 дней) внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений		
Биогеосорбент	кг	30,0×3 = 90,0
Нитроаммофоска, азофоска	кг	100×3 = 300
2. Двух-трехкратная (после каждого внесения биосорбента и минеральных удобрений) механическая обработка почвы техникой	га	1×2 -3=2-3

Технологическая карта Г75 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении нефтезагрязненных земель

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами глинистых почв с уровнем загрязнения от 10 до 75 мг/г (таблица 8.9, 8.10).

Таблица 8.9 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Глины. Суглинки
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	10-75 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	Нормальная
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.10 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
1. Однократное внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений		
Биогеосорбент	кг	20,0×1= 20,0
Минеральное удобрение	кг	100
2. Двукратная механическая обработка почвы техникой	га	1×2=2

**Технологическая карта Г150 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами глинистых почв с уровнем загрязнения от 75 до 150 мг/г (таблица 8.11, 8.12).

Таблица 8.11 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Глины. Суглинки
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	75-150 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	Нормальная
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.12 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
1. Двукратное (через 14-21 дней) внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений		
Биогеосорбент	кг	20,0×2= 40,0
Нитроаммофоска, азофоска	кг	100×2 = 200
2. Двух-трехкратная механическая обработка почвы	га	1×2-3=2-3

**Технологическая карта Т150 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами торфяных почв с уровнем загрязнения от 50 до 150 мг/г (таблица 8.13, 8.14).

Таблица 8.13 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Минеральные. Торфяные
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	50-150 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	От нормальной до избыточной
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.14 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
1. Однократное внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений		
Биогеосорбент	кг	15,0×1= 15,0
Нитроаммофоска, азофоска	кг	200×1 = 200
2. Двукратная механическая обработка почвы техникой	га	1×2=2

**Технологическая карта Т250 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами торфяных почв с уровнем загрязнения от 150 до 250 мг/г (таблица 8.15, 8.16).

Таблица 8.15 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Торфяные
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	150-250 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	От нормальной до избыточной
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.16 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
1. Двукратное (через 14-21 дней) внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений		
Биогеосорбент	кг	17,0×2= 34,0
Нитроаммофоска, азофоска	кг	200×2 = 400
2. Двух-трехкратная (после каждого внесения биогеосорбента и минеральных удобрений) механическая обработка почвы техникой	га	1×2-3=2-3

**Технологическая карта Т350 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении загрязненных нефтепродуктами торфяных почв с уровнем загрязнения от 250 до 350 мг/г (таблица 8.17, 8.18).

Таблица 8.17 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Торфяные
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	250-350 мг/г
Проектное использование участка после рекультивации	По документации на участок
Допустимое загрязнение нефтепродуктами земель в слое 0-20 см через 1 год после рекультивации	По региональному регламенту приемки земель
Степень увлажнения земель	От нормальной до избыточной
Дополнительные сведения	Древесно-кустарниковая растительность отсутствует

Таблица 8.18 – Организация и технология применения биосорбента.

Наименование работ и затрат (кроме учтенных в технологических картах на проведение биорекультивационных работ)	Единица измерения	Количество
1. Двукратное (через 14-21 дней) внесение биогеосорбента на поверхность почвы с одновременным внесением минеральных удобрений		
Биогеосорбент	кг	20,0×3= 60,0
Нитроаммофоска, азофоска	кг	200×3 = 600
2. Двух-трехкратная (после каждого внесения биогеосорбента и минеральных удобрений) механическая обработка почвы техникой	га	1×2-3=2-3

**Технологическая карта Ш200 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» для очистки нефтешламов методом буртования с исходным содержанием нефти 100-200 мг/г (таблица 8.19, 8.20).

Таблица 8.19 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Твердый нефтешлам
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	100-200 мг/г

Таблица 8.20 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Количество шлама 100 м³

Наименование работ	Единица измерения	Количество
Обработка подготовленного к буртованию нефтешлама		
Биогеосорбент	кг	10
Мочевина	кг	25
Нитроаммофоска, азофоска	кг	50

**Технологическая карта Ш250 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» для очистки нефтешламов методом буртования с исходным содержанием нефти 200-250 мг/г (таблица 8.21, 8.22).

Таблица 8.21 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Твердый нефтешлам
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	200-250 мг/г

Таблица 8.22 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Количество шлама 100м³

Наименование работ	Единица измерения	Количество
Обработка подготовленного к буртованию нефтешлама		
Биогеосорбент	кг	20
Мочевина	кг	25
Нитроаммофоска, азофоска	кг	50

**Технологическая карта ШЗ00 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®»
при восстановлении нефтезагрязненных земель**

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» для очистки нефтешламов методом буртования с исходным содержанием нефти 250-300 мг/г (таблица 8.23, 8.24).

Таблица 8.23 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Твердый нефтешлам
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20см до рекультивации	250-300 мг/г

Таблица 8.24 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Количество шлама 100 м³

Наименование работ	Единица измерения	Количество
Обработка подготовленного к буртованию нефтешлама		
Биогеосорбент	кг	30
Мочевина	кг	25
Нитроаммофоска, азофоска	кг	50

Технологическая карта ШЗ50 на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» при восстановлении нефтезагрязненных земель

Технологическая карта разработана на применение биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®» для очистки нефтешламов методом буртования с исходным содержанием нефти 300-350 мг/г (таблица 8.25, 8.26).

Таблица 8.25 – Основные характеристики состояния и использования земель

Почвы (грунты)	Твердый нефтешлам
Содержание нефтепродуктов в слое 0-20 см до рекультивации	300-350 мг/г

Таблица 8.26 – Организация и технология применения биогеосорбента.

Количество шлама 100 м³

Наименование работ	Единица измерения	Количество
Обработка подготовленного к буртованию нефтешлама		
Биогеосорбент	кг	40
Мочевина	кг	25
Нитроаммофоска, азофоска	кг	50

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 8.

Разработаны и утверждены технические условия, технологические карты, паспорт безопасности, техническая инструкция на производство альго-бактериально-дрожжевого консорциума (биопрепарат «БИОТРИН», биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®»). Разработана технология применения биопрепарата и биогеосорбента. Разработка защищена патентами, а также товарным знаком на биогеосорбент.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях Крайнего Севера при низких температурах почвы и короткого теплого сезона, все метаболические процессы, связанные с ростом и жизнедеятельностью биоты, протекают чрезвычайно медленно. Загрязненные углеводородами криогенные почвы характеризуются низким микробным разнообразием и высокоселективным таксономическим составом (Chong et al., 2018), что предопределяет очень низкие темпы самовосстановления. На сегодняшний день наиболее эффективными, экологически безопасными и предпочтительными для северных экосистем являются биологические методы (Rike et al., 2005). Особенности физико-химического состава почв, местного микробного сообщества диктуют необходимость планирования восстановительных мер индивидуально для каждого конкретного региона. Внесение аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов в загрязненные нефтью почвы во время восстановительных мероприятий снижает риск разрушения существующих в этих почвах микробных сообществ (Margesin, Schinner, 2001), что особенно важно для арктических регионов с холодным климатом (Primitz et al., 2021). Комплексное изучение ферментативной активности почв имеет большое теоретическое и практическое значение, поскольку позволяет оценить состояние почв в криолитической зоне до интенсивного техногенного вмешательства и после него, а также влияние методов биостимуляции и биоаугментации. Для выявления нефтяного загрязнения, как «свежего», так и «старого» нефтяного разлива, разработки эффективных методов очистки нарушенных земель, оценки качества принимаемых мер необходимо исследование направленности изменения ферментативной активности, потенциала ферментов-индикаторов качества почв.

Проведена комплексная оценка каталазной, дегидрогеназной, уреазной, фосфатазной, протеазной липазной, инвертазной сульфит- и сульфатредуктазной, нитратредуктазной активности фоновых, нефтезагрязненных почв и почв, подвергнутых рекультивационным мероприятиям в Усинском районе Республики Коми. В результате многолетних исследований выявлены закономерности

соотношения содержания нефтепродуктов и наиболее информативных ферментов – каталазы, дегидрогеназы и уреазы и предложена локальная прогностическая модель для оценки состояния почв данного района по первичным данным ферментативной активности (рисунок 8).

Выявлена роль ферментов как индикатора потенциала нефтезагрязненных почв и нефтяных отходов для выделения микроорганизмов и дальнейшего получения высокоэффективных биологических продуктов.

Выделены и с помощью биохимических, фенотипических, хемотаксономических, биотехнологических методов исследования идентифицированы микроорганизмы-нефтедеструкторы, разработан альго-бактериально-дрожжевой консорциум и определены его свойства в свободной и иммобилизованной форме, значимые для экологической и энергетической биотехнологии.

Разработана теоретическая и практическая база для создания биопродуктов на основе углеводородокисляющих микроорганизмов для очистки окружающей среды в природно-климатических условиях Крайнего Севера и биоконверсии нефтеотходов в биотопливо, схема которой приведена на рисунке 8.

В ходе научно-исследовательской работы был выполнен целый комплекс практических задач: создан биопрепарат, биогеосорбент, проведена токсикологическая экспертиза, разработаны и утверждены технические условия, технологический регламент; биопродукты введены в производство; разработаны технологические карты и технология применения. Выпуск биопродуктов осуществляет ООО «БИОЭКОБАЛАНС» (г. Сыктывкар). С 2016 г. произведены 1 м³ биопрепарата «БИОТРИН» и 3000 кг биогеосорбента «ГЕОЛЕКС®», с помощью которых было очищено 45 га загрязненных почв.

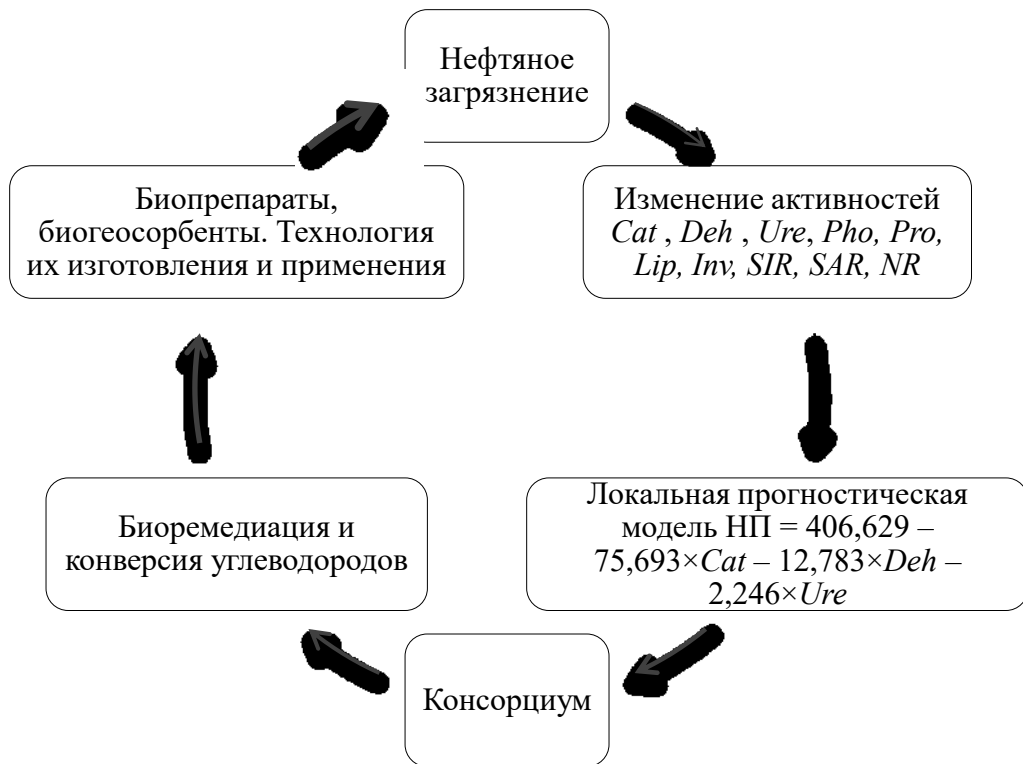


Рисунок – Схема теоретической и практической базы создания биопродуктов на основе углеводородокисляющих микроорганизмов

ВЫВОДЫ

1. Выявлены индикаторы направленности процессов восстановления криогенных почв и потенциального источника микроорганизмов-нефтедеструкторов в условиях Крайнего Севера – каталазная, дегидрогеназная, уреазная активности.

2. Выделены и идентифицированы штаммы бактерий *Pseudomonas yamanorum* S1-09.15 (VKM B-3033D) и дрожжей *Rhodotorula glutinis* 2SR-14 (VKM Y-2998D) из сильнозагрязненных нефтепродуктами почв и грунтов с высокими каталазной (2,9 мл KMnO_4 / 1 г почвы), дегидрогеназной (48–87,3 мг формазана / 10 г почвы) и уреазной (42,7–55 мг N-NH_4 /1 г почвы) активностью. Штаммы обладают высокой скоростью (3–4 суток) накопления биомассы – концентрация клеток 10^8 КОЕ/мл, галотолерантны, образуют биологические поверхностно-активные вещества, стабильную эмульсию 93–100 %. Описаны свойства штаммов.

3. Оценена эффективность очистки почвы от нефти и нефтепродуктов при загрязнении 5–10 % после внесения штаммов монокультур. В модельных экспериментах с водой, загрязненной сырой нефтью, получена высокая степень очистки в течение трех суток, равная 69–72 % при исходном загрязнении 5 % по объему. Установлено, что при 10 % загрязнения по объему штамм *Pseudomonas yamanorum* в течение 14 суток окисляет от 37 % до 69 % углеводородов, штамм *Rhodotorula glutinis* в течение 7 суток – 46 %. Показано, что трансформация полиаренов достигает 72 % от исходного количества.

4. Сконструирован нетоксичный нефтеокисляющий консорциум, включающий штаммы бактерий *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D, дрожжей *Rhodotorula glutinis*, микроводорослей *Chlorella vulgaris*, проявляющий синергетический эффект. Консорциум разлагает до 96 % углеводородов, до 80 % низкомолекулярных полиаренов (от флуорена до пирена) за 14 суток.

5. Установлено, что глауконитовый минерал, является оптимальным носителем пролонгированного действия, который обеспечивает клеткам консорциума повышение стрессоустойчивости, высокую степень биодеструкции

нефти и нефтепродуктов (65–99 %), обладает хорошими показателями биоразлагаемости.

6. Доказана высокая эффективность очистки в опытно-промышленных испытаниях (от 89 % до 98 %) нефтезагрязненной сточной воды, почвы и щебеночного балласта с применением альго-бактериально-дрожжевого консорциума в свободной или иммобилизованной форме в континентальных климатических условиях Западной Сибири и Республики Коми. Установлено, что отход очистки щебеночного балласта – эмульгированная нефтепродуктами суспензия является вторичным сырьем для получения биодизеля с максимальным выходом 58 %. Расчетные технические параметры биодизеля позволяют прогнозировать получение биотоплива, соответствующего требованиям межгосударственного стандарта ГОСТ 33131 – 2014.

7. Разработана нормативно-техническая документация на производство альго-бактериально-дрожжевого консорциума и биогеосорбента (биопрепарат «БИОТРИН», биогеосорбент «ГЕОЛЕКС[®]»), утверждена в Федеральном бюджетном учреждении «Государственный региональный центр стандартизации, метрологии и испытаний в Республике Коми». Разработана технология применения биопрепарата и биогеосорбента.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ

Разработанную локальную прогностическую модель зависимости ферментативной активности криоморфных почв от содержания в них нефтепродуктов рекомендуется применять в процессе дальнейшего мониторинга как данных почв, так и торфяных почв Усинского района Республики Коми для оценки их состояния по первичным показателям ферментативной активности.

Биопрепарат «БИОТРИН» и биогеосорбент «ГЕОЛЕКС[®]» рекомендованы для очистки почв, грунтов, водных поверхностей, щебеночного балласта от нефти и нефтепродуктов, биоконверсии нефтесодержащих отходов в биотопливо.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- НРК – Азот-фосфор-калий (минеральное удобрение)
- АО – Акционерное общество
- АПAB – Анионное поверхностно активное вещество
- АСПО – Асфальто-смолистые парафиновые отложения
- АЭС ИСП – Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой
- БАГ – Биологически активные гранулы
- БиоПАВ – Биологические поверхностно-активные вещества
- БПК – Биологическое потребление кислорода
- ВАК – Высшая аттестационная комиссия
- ВВ – Взвешенные вещества
- ВКМ – Всероссийская коллекция микроорганизмов
- ВПр – Выправочно-подбивочно-рихтовочные машины
- ГК – Гидролитическая кислотность
- ГНЦ – Государственный научный центр
- ГосНИИ – Государственный научно исследовательский институт
- ГОСТ – Государственный Общесоюзный стандарт
- ГСМ – Горючесмазочные материалы
- ГХ/МС – Аналитический метод, основанный на использовании газового хроматографа, сопряженного с масс-спектрометром
- ГХЦГ – γ -изомер Гексахлорциклогексан
- ДДТ – Дихлордифенилтрихлорэтан
- ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДОСНП – Допустимое остаточное содержание нефти в почве
- ДТ – Дизельное топливо
- Е24 – Индекс эмульгирования за 24 ч
- ЖК – Жирные кислоты
- ЗАО «ЦЭИ» – Закрытое акционерное общество "Центр экономических исследований"

ИБ НЦ УрО РАН – Институт биологии научный центр Уральского отделения
Российской академии наук

ИБФМ РАН – Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Российской
академии наук

ИНМИ РАН – Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Российской
академии наук

ИППЭС – Институт проблем промышленной экологии Севера

ИФР РАН – Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской
академии наук

ЙЧ – Йодное число

КОЕ – Колониеобразующая единица

КОЕ – Колониеобразующая единица

ЛД₅₀ – полуметальная, или средняя смертельная доза (количество вещества,
необходимого для гибели половины исследуемых организмов, находящихся в
типичном состоянии при нормальных условиях после определенного периода
времени испытаний)

МАЛДИ-ВП–масс-спектрометрия – матрично-активированная лазерная
десорбционно-ионизационная времяпролетная масс-спектрометрия

МГУ – Московский государственный университет

МК – Магистральный конденсатопровод

МПА – Мясо-пептонный агар

МПБ – Мясо-пептонный бульон

НП – Нефтепродукты

НПП – Научно производственное предприятие

НТО – Научно техническое общество

НТЦ – Научно технический центр

НШ – Нефтяной шлам

НШПП – Нефтешахтное производственное предприятие

ОАО – Открытое акционерное общество

ОМЧ – Общее микробное число

УТЖУ – Управление по транспортировке жидких углеводородов

ФА – Ферментативная активность

ФГБОУ ВО – Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования

ФГУП НИПИ – Федеральное государственное унитарное предприятие "Научно-исследовательский проектный институт"

ФККО – Федеральный классификационный каталог отходов

ФМБА – Федеральное медико-биологическое агентство

ФР – Федеральный реестр

ХМАО – Ханты-Мансийский автономный округ

ХПК – Химическое потребление кислорода

ЦБОСВ – Цех биологической очистки сточной воды

ЦДНГ – Цех добычи нефти и газа

ЦКП – Центр коллективного пользования

ЦППН – Цех подготовки и перекачки нефти

ЦЧ – Цетановое число

ШПЗ – Шпалопропиточные заводы

ЩОМ – Щебнеочистительная машина

ЯНАО – Ямало-ненецкий автономный округ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдусаламова, Х. С. Влияние нефтезагрязнения на показатели биологической активности почв / Х. С. Абдусаламова, А. М. Дохтукаева, Я. С. Усаева // *Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн.* – 2017. – № 12(42). – URL: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/5296>
2. Акименко, Ю. В. Изменение биохимических свойств чернозема обыкновенного при загрязнении биоцидами / Ю. В. Акименко, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников // *Агрохимия.* – 2015. – № 3. – С. 81–87.
3. Акимова, А. С. Последствия загрязнения поверхностных и сточных вод нефтью и нефтепродуктами / А. С. Акимова, Л. С. Филиппова // *Международный научно-исследовательский журнал.* – 2022. – №11 (125). <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.125.102>
4. Алексеев, А. Ю. Подбор ассоциации микроорганизмов-деструкторов нефтяной фракции твердых алканов при низких положительных температурах / А. Ю. Алексеев, Е. А. Смородина, Л. С. Адаменко, Е. К. Емельянова, В. А. Забелин, Т. Н. Ильичева, В. А. Резников, А. М. Шестопалов // *Современные проблемы науки и образования.* – 2011. – № 6. – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4939>.
5. Алексеева, Р. Н. Территории особого природоохранного значения (ТОПЗ) Республики Коми. ТОПЗ «Болото Усинское». Часть 8 / Под общ. ред. С. В. Дёгтевой // *Вестник Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН.* – 2014. – № 4 (186). – С. 52–54.
6. Алифирова, Е. Топ-10 технологий нефтесервиса / Е. Алифирова // *Деловой журнал NEFTEGAZ.RU.* – 2020. – № 4(100). – С. 86–87.
7. Альжанов, Б. А. Содержание растворенных углеводородов нефти в объеме воды при использовании различных методов ликвидации аварийных разливов нефти / Б. А. Альжанов, О. Г. Горовых // *Тенденции и перспективы развития современного научного знания: Мат. XVI Междунар. науч.-практ. конф.* – М.: Научно-информационный издательский центр «Институт стратегических исследований», 2015. – С. 29–33.

8. Анчугова, Е. М. Биотехнология глубокой очистки щебеночного балласта железной дороги от нефтезагрязнений / Е. М. Анчугова, В. Н. Некрасова, Т. Н. Щемелинина // Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии: Матер. Всеросс. науч.-практ. конф. – Киров: ВятГУ, 2019. – С. 84–87.
9. Анчугова, Е. М. Подходы к оценке методов рекультивации нефтезагрязненных почв. Е. М. Анчугова, Е. Н. Мелехина, М. Ю. Маркарова, Т. Н. Щемелинина // Почвоведение. – 2016. – № 2. – С. 257–260.
10. Арабский, А. К. Защита подземных вод от загрязнения нефтью / А. К. Арабский, В. Н. Башкин, Р. В. Галиулин, Р. А. Галиулина // Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение. – 2020. – № 7 (151). – С. 60–63.
11. Арзамазова, А. А. Влияние нефтезагрязнения на агрохимические свойства чернозема типичного и продуктивность яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) / А. А. Арзамазова, Р. Р. Кинжаев, А. Д. Гальцова, А. Н. Хрептугова // Проблемы агрохимии и экологии. – 2017. – № 4. – С. 21–25.
12. Артюх, Е. А. Перспективы применения биосорбентов для очистки водоемов при ликвидации аварийных разливов нефти / Е. А. Артюх, А. С. Мазур, Т. В. Украинцева, Л. В. Костюк // Известия СПбГТИ(ТУ). – 2014. – № 26. – С. 58–66.
13. Арчегова, И. Б., Криогенные проявления в почвах Коми АССР / И. Б. Арчегова, И. В. Забоева // Серия препринтов «Научные доклады». Вып.10. – Сыктывкар: Коми филиал АН СССР, 1974. – 36 с.
14. Асонов, А. М. Биорегенерация замазученного балласта / А. М. Асонов, О. П. Быстрова // Транспорт Урала. – 2014. – № 1 (40). – С.32–37.
15. Атлас по климату и гидрологии Республики Коми / М.: Дрофа; ДиК, 1997. –116 с.
16. Атлас почв Республики Коми / Под ред. Г. В. Добровольского, А. И. Таскаева, И. В. Забоевой. – Сыктывкар: Коми республиканская типография, 2010. – 356 с.

17. Афанасьева, В. А. Сравнение жирнокислотного состава липидов бактерий при росте на средах с разным источником углерода / В. А. Афанасьева, С. В. Алферов, И. А. Нечаева // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. – 2019. – № 4. – С. 39–44.

18. Ахметзянова, Л. Г. Лабораторное моделирование рекультивации нефтезагрязненных почв для определения допустимого остаточного содержания нефтепродуктов / Л. Г. Ахметзянова, С. Ю. Селивановская, В. З. Латыпова // Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. – 2010. – Т. 152, №4. – С. 68–77.

19. Багаутдинова, Г. Г. Влияние биопрепарата «Метаболит» на биологическую активность чернозема выщелоченного, устойчивость и продуктивность сельскохозяйственных растений в условиях нефтяного загрязнения : автореф. дис. ...канд. биол. наук / 03.02.08 / Багаутдинова Гульназ Галимовна. – Уфа, 2011. – 21 с.

20. Бакаева, М. Д. Использование для биорекультивации микроорганизмов деструкторов углеводов рода *Pseudomonas* с микостатической активностью / М. Д. Бакаева, О. С. Смолова, О. Н. Логинов // Биотехнология. – 2014а. – № 6. – С. 60-70.;

21. Бакаева, М. Д. Представители рода *Aspergillus* в черноземах и лесных почвах Башкортостана / М. Д. Бакаева, Н. Ф. Галимзянова, Н. А. Киреева, А. С. Григориади, Г. Ф. Рафикова // Биотехнология – от науки к практике: Мат. Всеросс. конф. В 2 т. Т. 1. – Уфа: Башкирский ГУ, 2014б. – С. 19–22.

22. Баландина, А. В. Микробная ремедиация нефтезагрязненных агродерново-карбонатных почв и техногенных поверхностных образований в подзоне южной тайги: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / Баландина Алевтина Власовна – Пермь, 2013. – 20 с.

23. Баулин, В. В. Основные этапы развития многомерзлотных пород северо-востока Европейской части СССР и Западной Сибири / В. В. Баулин, А. Л. Чеховский, С. Е. Суходольский // История развития многомерзлотных пород Евразии. – М.: Наука, 1981. – С. 41–60.

24. Бектурова, А. Ж. Эмульгирующая активность некоторых углеводородокисляющих микроорганизмов / А. Ж. Бектурова, Ж. К. Масалимов, Ж. Ж. Мархаметова, Р. Ш. Еркасов, Р. С. Оразбаева, А. О. Дарибай // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2013. – №3/1 (59). – С. 56–58.

25. Белик, Е. С. Исследование возможности использования отходов производства в качестве биосорбента / Е. С. Белик, К. А. Злобина // Вестник ПНИПУ. Приклад. экология. Урбанистика. – 2016. – № 3. – С. 62–76.

26. Белик, Е. С. Оценка эффективности применения биосорбента в технологии биологической очистки воды и почвы от нефтепродуктов / Е. С. Белик // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Прикладная экология. Урбанистика. – 2017. – № 4. – С. 104–114.
<https://doi.org/10.15593/2409-5125/2017.04.08>

27. Беловежец, Л. А. Физико-химические свойства биосурфактантов, продуцируемых микроорганизмами-нефтедеструкторами / Л. А. Беловежец, М. С. Третьякова, Ю. А. Маркова, Л. П. Ознобихина // Химия в интересах устойчивого развития. – 2021. – №29(1). – С. 21-26.

28. Биодизель из отходов начнет производить резидент ТОР в Амурской области // Пресс-служба министерства Российской Федерации по развитию Дальнего Востока. – 2018. – URL: <https://minvr.ru/press-center/news/13457/>.

29. Бодяков, А. Н. Анализ засорителей и загрязнителей щебеночного балласта / А. Н. Бодяков, Н. В. Селицкая // Образование. Наука. Производство : мат. IX Междунар. форум. – Белгород, БГТУ им. В. Г. Шухова, 2017. – С. 931–933.

30. Бузин, И. С. Трансформация соединений азота в почвах горно-тундровых экосистем Хибин / И. С. Бузин, М. И. Макаров, Т. И. Малышева, М. С. Кадулин, Н. Е. Королева, М. Н. Маслов // Почвоведение. – 2019. – № 5. – С. 570–577.

31. Бузолева, Л. С. Изучение нефтеокисляющей способности бактерий, выделенных из прибрежных вод юга о. Сахалин / Л. С. Бузолева, Е. А. Богатыренко, М. А. Репина, Н. Л. Белькова // Микробиология. – 2017. – Т. 86, № 3. – С. 317–325.

32. Булуктаев, А. А. Влияние рекультивации на биологическую активность загрязненных нефтью бурых полупустынных почв / А. А. Булуктаев, Л. Х. Сангаджиева, З. В. Горяшкиева, Н. С. Хейчиев // Вестник МГОУ. Серия: Естественные науки. – 2015. – № 4. – С. 16–21.

33. Булуктаев, А. А. Фитотоксичность и ферментативная активность почв Калмыкии при нефтяном загрязнении / А. А. Булуктаев // Юг России: Экология, Развитие. – 2017. – Т. 12, № 4. – С. 147–156.

34. Валиев, Д. З. Анализ современного состояния проблемы предотвращения образования и утилизации отложений асфальтосмолопарафиновых веществ в нефтяной отрасли / Д. З. Валиев, А. Ф. Кемалов, Р. А. Кемалов // Экспозиция Нефть Газ. – 2019. – № 2 (69) . – С. 28–32.

35. Василевич, Р. С. Высоко и низкомолекулярные органические соединения в тундровых торфяниках / Р. С. Василевич, Д. Н. Габов, В. А. Безносиков, И. В. Груздев, Е. Д. Лодыгин // Теоретическая и прикладная экология. – 2015. – № 1. – С. 53–61.

36. Василевская, В. Д. Роль почв и почвенного покрова в устойчивости экосистем тундры / В. Д. Василевская // Криопедеология-97: Тез. докл. междунар. конф. Сыктывкар, 1997. – С. 165.

37. Величко, Д. В. Анализ загрязненности щебеночного балласта / Д. В. Величко, Н. А. Толстикова // Известия Транссиба. – 2016. – № 3 (27). – С. 110–117.

38. Величко, Д. В. Оценка состояния балластного слоя в условиях пропуска сверхнормативного тоннажа / Д. В. Величко // Политранспортные системы. – 2017. – С. 153-158.

39. Ветрова, А. А. Биодеструкция нефти отдельными штаммами и принципы составления микробных консорциумов для очистки окружающей среды от углеводородов нефти / А. А. Ветрова, А. А. Иванова, А. Е. Филонов, В. А. Забелин, А. Б. Гафаров, С. Л. Соколов, И. А. Нечаева, И. Ф. Пунтус,

А. М. Боронин // Известия Тульского государственного университета Естественные науки. – 2013. – Вып. 2, Ч.1. – С. 241–257.

40. Виноградова, Ю. А. Распределение микроскопических грибов в многолетнемерзлых торфяниках лесотундры / Ю. А. Виноградова, Е. М. Лаптева, В. А. Ковалева, Е. М. Перминова // Микология и фитопатология. – 2019. – Т. 53, № 6. – С. 342–353.

41. Владимиров, В. А. Разливы нефти: причины, масштабы, последствия / В. А. Владимиров // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. – 2014. – Т.4, №1. – С. 217–229.

42. Воеводина, Т. С. Влияние нефти на химические свойства чернозема обыкновенного Южного Предуралья / Т. С. Воеводина, А. М. Русанов, А. В. Васильченко // Вестник ОГУ. – 2015. – № 10(185). – С. 157–161.

43. Воробьев, Д. С. Токсичность нефти на дне водных объектов для организмов макрозообентоса / Д. С. Воробьев, В. В. Перминова, Ю. А. Франк // Наука, образование, производство в решении экологических проблем (Экология-2020) : Мат. XVI Междунар. науч.-техн. конф., посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне. В 2 т. Т. 2. – Уфа: Башкирский ГУ, 2020. – С. 129–131.

44. Выросткова, Д. В. Анализ методов очистки водных объектов от нефтепродуктов / Д. В. Выросткова, Р. В. Гулиев, И. М. Розин, Ю. К. Рубанов // Безопасность, защита и охрана окружающей природной среды: фундаментальные и прикладные исследования : Докл. Всеросс. науч. конф. – Белгород: Издательство БГТУ, 2019. – С. 138–143

45. Габбасова, И. М. Деградация и мелиорация почв при загрязнении нефтепромысловыми сточными водами / И. М. Габбасова, Р. Р. Сулейманов, Т. Т. Гарипов // Почвоведение. – 2013. – № 2. – С. 226–233.

46. Габов, Д. Н. Закономерности формирования полициклических ароматических углеводородов в почвах Северной и Средней тайги / Д. Н. Габов, В. А. Безносиков, Б. М. Кондратенок, Е. В. Яковлева // Почвоведение. – 2008. – № 11. – С. 1334–1343.

47. Габов, Д. Н. Насыщенные углеводороды в фоновых и загрязненных почвах Предуралья / Д. Н. Габов, В. А. Безносиков, Б. М. Кондратенко, И. В. Груздев // Почвоведение. – 2010. – № 10. С. 1190–1196.
48. Газалиев, И. М. Радиоэкологические аспекты добычи нефти и газа в Дагестане / И. М. Газалиев, М.-П. Б. Айтеков, М. Р. Бабаев, И. А. Идрисов // Вестник Дагестанского науч. центра. – 2014. – № 55. – С. 27–30.
49. Гарабаджиу, А. В. Кластер технологических установок переработки многотоннажных накоплений кислых гудронов и нефтешламов / А. В. Гарабаджиу // Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт. – 2012. – Вып. 9. – С. 37–48.
50. Геокриологическая карта СССР, масштаб 1:2 500 000 / Под редакцией Э. Д. Ершова. – Винница : Винницкая картографическая фабрика, 1996. – 16 с.
51. Геокриология СССР. Европейская территория СССР / Под ред. Э. Д. Ершова. – М.: Недра, 1988. – 358с.
52. Гецен, М. В. Альгофлора Большеземельской тундры в условиях антропогенного воздействия / М. В. Гецен, А. С. Стенина, Е. Н. Патова ; отв. ред. Э. А. Штина. – Екатеринбург: УИФ Наука, 1994. – 148 с.
53. Глазунова, Е. А. Биологическая активность почв водоохранной зоны реки Бира, район города Биробиджана по ферментативной активности каталазы / Е. А. Глазунова, В. Ю. Поляков // Постулат. – 2016. – №11.– Режим доступа: <http://e-postulat.ru/index.php/Postulat/article/viewFile/210/223>
54. Глушанкова, И. С. Возможные направления использования остатков после термообработки нефтесодержащих отходов / И. С. Глушанкова, Е. В. Калинина, Л. В. Рудакова, О. А. Белоногова, А. Г. Кочкина // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Охрана окружающей среды, транспорт, безопасность жизнедеятельности. – 2013. – №1. – С. 46–56.
55. ГОСТ 23732-2011. Вода для бетонов и строительных растворов. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2012. – 12 с.

56. ГОСТ 26212-91. Почвы. Определение гидролитической кислотности по методу Каппена в модификации ЦИНАО. – М.: Всесоюзное производственно-научное объединение «Союзсельхозхимия», 1993.
57. ГОСТ 26423-85. Почвы. Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки. Министерство сельского хозяйства СССР. – М.: Министерство сельского хозяйства СССР, 1986а.
58. ГОСТ 26424-85. Почвы. Метод определения ионов карбоната и бикарбоната в водной вытяжке. – М.: Министерство сельского хозяйства СССР, 1986б.
59. ГОСТ 26426-85. Почвы. Метод определения иона сульфата в водной вытяжке. – М.: Министерство сельского хозяйства СССР, 1986в.
60. ГОСТ 26427-85. Почвы. Метод определения натрия и калия в водной вытяжке. – М.: Министерство сельского хозяйства СССР, 1986г.
61. ГОСТ 26428-85. Почвы. Методы определения кальция и магния в водной вытяжке. – М.: Министерство сельского хозяйства СССР, 1986д.
62. ГОСТ 26483-85. Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение ее рН по методу ЦИНАО. – М.: Министерство сельского хозяйства СССР, 1986е.
63. ГОСТ 33131 – 2014. Межгосударственный стандарт. Смеси биодизельного топлива (В6-В20). Технические требования. М.: Стандартинформ, 2015. – 16 с.
64. ГОСТ 54650-2011. Почвы. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО. – М.: Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИА им. Д.Н. Прянишникова»). – 2013.
65. ГОСТ 7392-2014. Щебень из плотных горных пород для балластного слоя железнодорожного пути. – М.: Стандартинформ, 2015. – 35 с.

66. ГОСТ Р 57447-2017. Наилучшие доступные технологии. Рекультивация земель и земельных участков, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Основные положения. – М.: Стандартинформ, 2017. – 32 с.

67. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2017 году». – М.: Минприроды России; НТП-«Кадастр», 2018. – 888 с.

68. Григориади, А. С. Мониторинг состояния техногенных территорий, нарушенных деятельностью нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности, в условиях умеренных и северных широт / А.С. Григориади, Н. А. Киреева, Л. Л. Водопьянова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2012. – № 6 (38). – С. 207–209.

69. Григорьев, А. Ю. Люди, нефть, птицы. Обзор мирового опыта спасения птиц при нефтяном загрязнении / А. Ю. Григорьев, А. Ю. Книжников, К. А. Пахорукова; под общ. ред. К. А. Пахоруковой. – М.: Всемирный фонд дикой природы (WWF), 2014. – 57 с.

70. Гридина М. С. Изучение влияния компонентов нефтесодержащих отходов на качество продукции гидроочистки углеводородных фракций: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 02.00.13 / Гридина Мария Сергеевна. – Самара, 2014. – 24 с.

71. Гриш, А. Росприроднадзор оценил ущерб от аварии в Норильске в 148 млрд. рублей / А. Гриш, П. Трифонова // Ведомости. – 2020. – 06 июля. – Режим доступа: <https://www.vedomosti.ru/business/articles/2020/07/06/834056-rosprirodnadzor-otsenil-uscherb-ot-avarii>.

72. Гурылева, Н. Л. Снижение техногенной нагрузки на окружающую природную среду путем переработки нефтешламов : автореф. дис. ... канд. техн. наук: 03.02.08 / Гурылева Надежда Леонидовна. – Иваново, 2013. – 16 с.

73. Данилович, Д. А. Справочник наилучших эффективных технологий (Базовые материалы). Раздел: водоотведение. Подраздел: очистные сооружения канализации (ОСК) / Д. А. Данилович. – М. – 2015. – 226 с.

74. Двадненко, М. В. Методы очистки вод от загрязнений нефтью и нефтепродуктами / М. В. Двадненко, Н. М. Привалова // *Международ. журнал экспериментального образования*. – 2017. – № 3, Ч. 1. – С. 90–91.
75. Делеган, Я. А. Термотолерантные бактерии-деструкторы углеводородов нефти: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.06 / Делеган Янина Адальбертовна. – Пушкино, 2016а. – 20 с.
76. Делеган, Я. А. Термотолерантные бактерии-нефтедеструкторы, выделенные из проб грунта и воды географически удаленных регионов / Я. А. Делеган, А. А. Ветрова, В. Н. Акимов, М. А. Титок, А. Е. Филонов, А. М. Боронин // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2016б. – Т.52. – № 4. – С. 383–391.
77. Демина, Л. А. Как отмыть «Черное золото»: О ликвидации нефтяных загрязнений / Л. А. Демина // *Энергия*. 2011. № 10. С. 51–54.
78. Добыча нефти в России – история, статистика по годам, регионам, компаниям [Электронный ресурс]. – 2019. – Режим доступа: <https://prognostica.info/news/show/36>.
79. Долгополова, В. Л. Способы очистки морских акваторий от нефтяных загрязнений / В. Л. Долгополова, О. В. Патрушева // *Молодой ученый*. – 2016. – № 29. – С. 229–234.
80. Донерьян, Л. Г. Микроскопические почвенные грибы – организмы-биоиндикаторы нефтезагрязненных почв / Л. Г. Донерьян, М. А. Водянова, Ж. Е. Тарасова // *Гигиена и санитария*. – 2016. – № 9. – С. 891–894.
81. Дубовик, И. Е. Биоиндикация нефтяного загрязнения почв с использованием цианобактерий и водорослей / И. Е. Дубовик, М. Ю. Шарипова, Т. Р. Кабиров // *Биотехнология – от науки к практике: Мат. Всеросс. конф. В 2 т. Т. 1.* – Уфа: Башкирский ГУ, 2014. – С. 25–29.
82. Дубовик, И. Е. Изменение цианобактериально-водорослевых ценозов нефтезагрязненных почв при биоремедиации / И. Е. Дубовик, М. Ю. Шарипова, Т. Р. Кабиров // *Вестник Башкирского ун-та*. – 2015. – Т. 20, № 1. – С. 111–114.
83. Дягилец, Е. Ю. Люди, нефть, птицы. Рекомендации для практических мероприятий / Е. Ю. Дягилец, А. Ю. Книжников, Р. А. Мнацеканов, О. В. Пегова;

под общ. ред. К.А. Пахоруковой. – М.: Всемирный фонд дикой природы (WWF), 2014. – 58 с.

84. Егоров, А. Н. Отходы нефтехимических производств – сырьё для ресурсосберегающих технологий: уч. пособие / А. Н. Егоров, Г. И. Егорова. – Тюмень: ТИУ, 2016. – 190 с.

85. Ерофеевская Л. А. Разработка способа очистки мерзлотных почв и грунтов от нефтезагрязнений в природно-климатических условиях Якутии: автореф. дис. ... канд биол. наук: 03.02.08 / Ерофеевская Лариса Анатольевна. – Томск, 2018. – 27 с.

86. Ефремова, С. Ю. Изменение биологической активности нефтезагрязненной почвы под действием приемов реабилитации / С. Ю. Ефремова, Е. А. Полянскова // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2014. – № 5 (21). – С. 199–203.

87. Жаббаров, З. А. Изменение ферментативной активности нефтезагрязненных почв / З. А. Жаббаров, У. М. Номозов, М. Ф. Бахранова, Ж. Ж. Абдукаримов // Биологические науки. – 2023. – № 1. – С.18–23.

88. Житник, А. О. Утилизация отходов нефтегазовой промышленности / А. О. Житник, В. И. Зверева // Великие реки'2016: Труды 18-го Междунар. науч.-пром. форума. В 3 т. Т. 1. – Н. Новгород: ННГАСУ, 2016 – С. 175–178.

89. Жмырко, Т. Г. Очистка нефтесодержащих вод сорбентами / Т. Г. Жмырко, Т. К. Новикова // Эксплуатация морского транспорта. – 2015. – Вып. 2 (75). – С. 92–98.

90. Журавлева, А. С. Влияние нефтезагрязнения на микробоценоз почв, прилегающих к нефтехранилищу / А. С. Журавлева, Н. М. Лабутова, Е. Е. Андронов // Экологическая генетика. – 2017. – № 4. – С. 60–68.

91. Забелина, О. Н. Биологическая активность запечатанной почвы урбанизированных территорий / О. Н. Забелина, А. С. Злышко // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 5. – С. 167–170.

92. Забоева, И. В. Почва и земельные ресурсы Коми АССР / И. В. Забоева. – Сыктывкар : Коми кн. изд-во, 1975. – 344 с.

93. Залилова, Л. Р. Углерододокисляющая активность основных типов почв Республики Башкортостан и Краснодарского края, загрязненных нефтью и нефтепродуктами / Л. Р. Залилова, Н. А. Кеслер, А. С. Григориади // Биотехнология – от науки к практике: Мат. Всеросс. конф. В 2 т. Т. 1. – Уфа: Башкирский ГУ, 2014. – С. 33–36.
94. Залялетдинова, К. Ф. Анализ влияния нефти на сезонное распределение инфузорий в светло-серой лесной почве Томского района / К. Ф. Залялетдинова, Ю. А. Полякова // Популяционная экология растений и животных: Мат. I междунар. молодежной науч. конф. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2015. – С. 65–68.
95. Залялетдинова, Н. А. Влияние нефтезагрязнений на сообщества почвенных инфузорий и нематод в лабораторных условиях / Н. А. Залялетдинова, С. А. Антропова, А. Г. Карташев // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2016а. – № 2. – С. 50–55.
96. Залялетдинова, Н. А. Влияние экологических факторов на сообщества почвенных инфузорий / Н. А. Залялетдинова, А. Г. Карташев. – Томск: Изд-во ТУСУР, 2016б. – 140 с.
97. Замотаев, И. В. Химическое загрязнение и трансформация почв в районах добычи углеводородного сырья (обзор литературы) / И. В. Замотаев, И. В. Иванов, П. В. Михеев, А. Н. Никонова // Почвоведение. – 2015. – № 12. – С. 1505–1518.
98. Заушинцен, А. С. Изменение целлюлазной активности почвы под влиянием загрязнения нефтепродуктами / А. С. Заушинцен // Вестник Кемеровского государственного университета. – 2015. – № 4–3(64). – С. 21–24.
99. Звягинцев, Д. Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки ее некоторых показателей / Д. Г. Звягинцев // Почвоведение. – 1978. – № 6. – С. 48–54.
100. Звягинцев, Д. Г. Биология почв / Д. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева., Г. М. Зенова. – М.: МГУ, 2005. – 445 с.

101. Зеленковский, П. С. Проблемы регулирования деятельности хозяйствующих субъектов при разработке месторождений полезных ископаемых в границах особо охраняемых природных территорий / П. С. Зеленковский, И. И. Подлипский, В. Р. Хохряков // Вестник СПбГУ. Сер. 7. – 2016. – Вып. 3. – С.60–74.
102. Зенкевич, М. Ю. Биологическая очистка Арктических территорий / М. Ю. Зенкевич, В. Е. Прокофьев, К. В. Янович // Научные проблемы материально-технического обеспечения вооруженных сил Российской Федерации. – 2019. – С. 300–305.
103. Зенкевич, М. Ю. Решение проблемы ликвидации накопленного экологического ущерба силами Минобороны в Арктике / М. Ю. Зенкевич, К. В. Янович, В. Е. Прокофьев // Научные проблемы материально-технического обеспечения вооруженных сил Российской Федерации. – 2017. – С. 139–150.
104. Зенова, Г. М. Практикум по биологии почв / Г. М. Зенова, А. Л. Степанов, А. А. Лихачева, Н. А. Манучарова. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 120 с.
105. Иванова, А. Е. Биодegradация углеводов и образование поверхностно-активных соединений ацидофильными микобактериями / А. Е. Иванова, Д. Ш. Соколова, А. Ю. Канатьева // Микробиология. – 2016. – Т. 85, № 3. – С. 300–308.
106. Иванова, Н. А. Абиотические и биотические факторы почвы в условиях нефтяного загрязнения / Н. А. Иванова, Ю. Н. Усачева // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2012. – № 10 (146). – С. 143–148.
107. Иванова, Т. И. Микробиологическая характеристика мерзлотных почв острова Тит-Ары (Якутия) / Т. И. Иванова, Н. П. Кузьмина, А. П. Исаев // Сибирский экологический журнал. – 2012. – № 6. – С. 831–840.
108. Ивашечкин, А. А. Липиды мицелиальных грибов, как основа для создания биодизельного топлива: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03, 03.01.06 / Ивашечкин Алексей Александрович. – М., 2015. – 142с.
109. Ившина, И. Б. Биоремедиация нарушенных углеводородами и тяжелыми металлами почв с использованием *Rhodococcus*-биосурфактантов и

иммобилизованных родококков / И. Б. Ившина, А. В. Криворучко, М. С. Куюкина, Л. В. Костина, Т. А. Пешкур, К. Д. Каннингхем // Аграрный вестник Урала. – 2012. – № 8 (100). – С. 65–68.

110. Идрисова, Д. Т., Изучение влияния органоминеральных удобрений в биоремедиации нефтезагрязненных почв месторождения «Акшабулак» / Д. Т. Идрисова, А. У. Туякбаева, Е. Ж. Шорабаев // Экологические проблемы промышленных городов : мат. 6 Всеросс. науч.-практ. конф. – Саратов, Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю. А., 2013. – С. 125–127.

111. Ильинский, А. В. Биоремедиация загрязнённых нефтепродуктами почв при помощи карбонатного сапропеля и биопрепарата «Нафтокс» / А. В. Ильинский, Л. В. Кирейчева, Д. В. Виноградов // Вестник РГАТУ. – 2016. – № 2 (30). – С. 28-35.

112. Имобилизованные клетки и ферменты: учебно-методический комплекс / В. М. Юрин, Т. И. Дитченко. – БГУ: Белорусский государственный университет, 2014. – 138 с.

113. Имполитов, Р. В Коми ввели режим ЧС из-за крупного разлива нефти на месторождении «ЛУКойла» / Р. Имполитов // Интернет-издание Life.ru. – 2020. – 19 октября. – Режим доступа: <https://life.ru/p/1350499>.

114. Инновационный абсорбент ElcoSorb [Электронный ресурс]: официальный сайт, 2011. – Режим доступа: <https://www.elcosorb.ru>

115. Исакова, Е. А. Особенности воздействия нефти и нефтепродуктов на почвенную биоту / Е. А. Исакова // Colloquium-journal. – 2019. – №12(36). – С.4–7.

116. Ишков, А. Г. Новые технологические решения для переработки нефтешламов в нефтегазовом секторе России / А. Г. Ишков, Г. С. Аكوпова, Л. В. Стрекалова, Д. В. Пантелеев // Экология и промышленность России. – 2012а. – № 9. – С. 14–17.

117. Ишков, А. Г. Установки для утилизации нефтешламов / А. Г. Ишков, Г. С. Аكوпова, С. И. Козлов, П. Б. Попов, И. Н. Прыскалов // Экология и промышленность России. – 2012б. – № 9. – С. 18–23.

118. Казанин, А. Г. Реализация государственной арктической политики: приоритеты и стратегии : дис. ... д-ра эконом. наук: 08.00.05 / Казанин Алексей Геннадьевич. – Москва, 2022. – 443 с.

119. Каниева, Н. А. Морфофункциональные изменения карповых рыб под воздействием нефти / Н. А. Каниева, Н. Н. Фёдорова // Вестник АГТУ. – 2014. – № 1. – С. 69–73.

120. Капелькина, Л. П. Методические подходы к оценке ущерба, наносимого экосистемами Севера при хозяйственном освоении территорий традиционного природопользования / Л. П. Капелькина, А. М. Карелова, А. В. Драган, Е. К. Васильев, Н. В. Беяева, Т. М. Королева, Е. А. Мазная // Освоение Севера и проблемы рекультивации: докл. III междунар. конф. – Сыктывкар, 1997. – С. 414–421.

121. Караев, С. Экологические проблемы транспортировки нефти и нефтепродуктов и новые методы очистки водной поверхности от нефти и нефтепродуктов / С. Караев, К. Шихалиев. – Hannover: EAEN, 2014. – 44 с.

122. Каримуллин, Л. К. Биологические свойства почв республики Татарстан, содержащих остаточное нефтяное загрязнение / Л. К. Каримуллин, А. М. Петров, А. А. Вершинин, Н. В. Шурмина // Сборник научных трудов Института проблем экологии и недропользования АН РТ. Казань: Академия наук Республики Татарстан, 2014. – С. 231–236.

123. Каримуллин, Л. К. Биохимическая активность дерново-подзолистых почв в условиях нефтяного загрязнения / Л. . Каримуллин, А. М. Петров, А. А. Вершинин // Устойчивое развитие регионов: опыт, проблемы, перспективы : матер. Международ. науч.-практ. конф. – Казань: Академия наук Республики Татарстан, 2017. – С. 296–300.

124. Каримуллин, Л. К. Ферментативная активность нефтезагрязненных дерново-подзолистых почв / Л. К. Каримуллин, А. М. Петров // Химия и инженерная экология–XXI. – 2021. – С. 209–212.

125. Каримуллин, Л. К. Физиологическая активность почв при разных уровнях нефтяного загрязнения / Л. К. Каримуллин, А. М. Петров, А. А.

Вершинин, Н. В. Шурмина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17, № 4 (4). – С. 797–803.

126. Каримуллин, Л. К. Фиторекультивация и физиологическая активность нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы / Л. К. Каримуллин, А. М. Петров, А. А. Вершинин // Российский журнал прикладной экологии. – 2016. – № 1. – С. 14–17.

127. Карташев, А. Г. Адаптация животных к хроническим факторам / А. Г. Карташов. – Saarbrucken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014. – 260 с.

128. Каукин, А. С. Мониторинг ситуации на нефтяном рынке во II квартале 2022 г. / А. С. Каукин, Е. М. Миллер // 29th OPEC and non-OPEC Ministerial Meeting concludes OPEC. – 2022. URL: https://www.opec.org/opec_web/en/press_room/6882.htm

129. Киреева, Н. А. Биологическая активность нефтезагрязненных почв / Н. А. Киреева, В. В. Водопьянов, А. М. Мифтахова. – Уфа: Гилем, 2001. – 376 с.

130. Киреева, Н. А. Биологическая активность загрязненных нефтью и рекультивируемых торфяно-глеевых почв Республики Коми / Н. А. Киреева, Г. Ф. Рафикова, Т. Н. Щемелинина, М. Ю. Маркарова // Агрехимия. – 2008. – №8. – С.68–75.

131. Кириенко, О. А. Влияние загрязнения почвы нефтепродуктами на состав микробного сообщества / О. А. Кириенко, Е. Л. Имранова // Вестник ТОГУ. – 2015. – № 3 (38). – С. 79–86.

132. Кирцидели, И. Ю. Почвообитающие микроскопические грибы в экосистемах Арктики и Антарктики : автореф. дис... д-ра. биол. наук : 03.02.13 / Кирцидели Ирина Юрьевна. – 2019. – 58 с.

133. Клишин, А. Ю. Моллюски как индикаторы нефтяного загрязнения / А. Ю. Клишин, Н. А. Каниева, О. В. Баджаева, Н. Н. Фёдорова // Проблемы патологии, иммунитета и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: Мат. IV междунар. конф. – Ярославль: Филигрань, 2015. – С. 529–533.

134. Клишин, А. Ю. Нарушения органов и тканей моллюсков рода *Unio* под воздействием нефти / А. Ю. Клишин, Н. А. Каниева, О. В. Баджаева, Н. Н. Фёдорова // Труды ВНИРО. – 2016. – Т. 162. – С. 82–86.
135. Клыков, М. В. Технология обезвоживания нефтешламов / М. В. Клыков, Т. В. Алушкина // Интеграция науки и образования в вузах нефтегазового профиля – 2020 : мат. Междунар. науч. методич. конф. – Уфа: Изд-во УГНТУ, 2020. – С. 419–421.
136. Ковалева, Е. И. О возможности применения ферментативной активности при экологическом нормировании и оценке нефтезагрязненных почв / Е. И. Ковалева, М. А. Пукальчик // III Ковалевские молодежные чтения «Почва – ресурс экологической и продовольственной безопасности»: Мат. Всеросс. науч. конф. – Томск: ИД Томского гос. ун-та, 2016. – С. 51–56.
137. Ковальчук, Е. А. Биосорбент для ликвидации нефти с поверхности водоемов / Е. А. Ковальчук // Известия Самарского науч. центра РАН. – 2013. – Т. 15, №3–6. – С. 1817–1819.
138. Колесников, С. И. Биодиагностика устойчивости бурых лесных почв Западного Кавказа к загрязнению тяжелыми металлами, нефтью и нефтепродуктами / С. И. Колесников, К. Ш., Казеев, Р. К. Татлок, З. Р. Тлехас, Т. В. Денисова, Е. В. Даденко // Сибирский экологический журнал. – 2014а. – № 3. – С. 493–500.
139. Колобова, Е. С. Утилизация нефтешламов резервуарного типа в изоляционный композит на основе серы для полигонов хранения промышленных и бытовых отходов : дис. ... канд. техн. наук : 03.02.08 // Колобова Екатерина Александровна. – Пенза, 2015. – 138 с.
140. Колоев, К. В. Экологические аспекты железнодорожного транспорта / К. В. Колоев, С. О. Потапова // Пожарная безопасность: проблемы и перспективы. – 2018. – С. 410–417.
141. Колос, А. Ф. Засорение и загрязнение щебеночного балласта при эксплуатации железнодорожного пути / А. Ф. Колос // Известия Петербургского университета путей сообщения. – 2022. – Т. 19. – Вып. 3. – С. 558–575.

<https://doi.org/10.20295/1815-588X-2022-3-558-575>

142. Кондрашина, В. С. Влияние композитного сорбента и биопрепарата «Деворойл» на скорость детоксикации серой лесной почвы, загрязнённой нефтью / В. С. Кондрашина, Е. Р. Стрижакова, Г. К. Васильева // Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов : Матер. V Пущинской конф. – Москва: ООО «ИД «Вода: химия и экология», 2018. – С. 19–21.

143. Коржова, А. Е. Исследование влияния биосурфактантов на процессы биоремедиации водных объектов / А. Е. Коржова, Н. Р. Молодкина // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке: Мат. IX междунар. науч.-техн. конф. – СПб: Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2019. – С. 255–258.

144. Коршунова, Т. Ю. Микробиологические технологии ликвидации нефтезагрязнений в различных климатических условиях : дис. ...д-ра биол. наук. : 03.01.06, 03.02.03 / Коршунова Татьяна Юрьевна. – Уфа, 2019. – 437 с.

145. Коршунова, Т. Ю. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) / Т. Ю. Коршунова, С. П. Четвериков, М. Д. Бакаева, Е. В. Кузина, Г. Ф. Рафикова, Д. В. Четверикова, О. Н. Логинов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019. – Т. 55, № 4. – С. 338–349.

146. Коршунова, Т. Ю. Микроорганизмы, разлагающие нефтяные углеводороды при пониженной температуре / Т. Ю. Коршунова, А. А. Сабиров, С. П. Четвериков, М. Д. Бакаева, О. Н. Логинов // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2012. – № 3. – С. 76–82.

147. Крапивский, Е. И. Нефтешламы: уничтожение, утилизация, дезактивация: монография / Е. И. Крапивский. – Москва, Вологда : Инфра-Инженерия, 2021. – 431 с.

148. Красногорская, Н. Н. Отмывка нефтешлама растворами поверхностно-активных веществ / Н. Н. Красногорская, И. Ф. Гладких, В. А. Купцов, А. Б. Магид, М. А. Магид // Безопасность жизнедеятельности. – 2020. – № 8 (236). – С. 20–25.

149. Крюкова, М. А. Утилизация нефтешлама / М. А. Крюкова // Горение и плазмохимия. – 2014. – № 12 (12). – С. 266–275.
150. Кужамбердиева, С. Ж. Рекультивация нефтезагрязненных земель с использованием органоминеральных удобрений в аридной зоне Республики Казахстан / С. Ж. Кужамбердиева, Б. Б. Абжалелов, А. Б. Байдосова, М. Ю. Гилязов // International Scientific Agricultural Journal. – 2018. – № 4. – С. 82–87.
151. Кузнецов, А. Е. Прикладная эковиотехнология : учебное пособие : в 2 т. Т. 1 / А. Е. Кузнецов, Н. Б. Градова, С. В. Лушников. – М.: Бином, Лаборатория знаний, 2015. – 629 с.
152. Кузнецов, С. М. Способность некоторых бактерий-нефтедеструкторов продуцировать биосурфактанты / С. М. Кузнецов, А. А. Алалыкин, Е. О. Лобанова, О. А. Новикова, В. Г. Комоско, С. Г. Литвинец, Е. А. Мартинсон, А. В. Николаева, М. А. Трошин // Теоретическая и прикладная экология. – 2020. – № 2. – С. 130–135.
153. Кузнецова, Т. В. Динамика микробного пула дерново-подзолистых почв при разных начальных уровнях нефтяного загрязнения / Т. В. Кузнецова, А. М. Петров, Р. Э. Хабибуллин // Вестник технологич. ун-та. – 2017. – Т. 20, № 17. – С. 116–120.
154. Кузнецова, Т. В. Состав микробных сообществ при различном содержании нефтепродуктов в серых лесных почвах / Т. В. Кузнецова, А. М. Петров, И. В. Князев, Р. Э. Хабибуллин // Вестник технологич. ун-та. – 2016. – Т. 19, № 14. – С. 165–168.
155. Куликова, Н. А. Деградация нефти базидиальными грибами белой гнили в почве и торфе при пониженной температуре / Н. А. Куликова, О. И. Кляйн, Д. В. Пивченко, Е. О. Ландесман, Н. Н. Позднякова, О. В. Турковская, Б. Ц. Зайчик, А. О. Ружицкий, О. В. Королёва // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016. – № 52(6). – С. 599–608.
156. Кулюгина, Е. Е. Распределение почвенных альгогруппировок в горно-тундровых сообществах полярного и приполярного Урала / Е. Е. Кулюгина, И.

В. Новаковская, Е. Н. Патова, А. Б. Новаковский // Биоразнообразие экосистем Крайнего Севера: инвентаризация, мониторинг, охрана: мат. III Всеросс. науч. конф. – Сыктывкар, 2017. – С. 35–43.

157. Кулюкина, Е. В. Влияние бензина и дизельного топлива на сообщества раковинных амеб / Е. В. Кулюкина, А. Г. Карташев // Вестник НВГУ. – 2017. – № 4. – С. 54–63.

158. Купревич, В. Ф. Почвенная энзимология / В. Ф. Купревич, Т. А. Щербакова. – Минск. Наука и техника: 1966. – 275 с.

159. Кутузова, И. В. Динамика восстановления биологических свойств чернозема обыкновенного, загрязненного нефтью / И. В. Кутузова, С. И. Колесников, К. Ш. Казеев, Ю. В. Акименко, Ю. С. Козунь, М. А. Мясникова, Е. В. Налета, А. С. Цалоева, М. П. Черникова // Научный журнал КубГАУ. – 2014. – № 104 (10). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2014/10/pdf/040.pdf>

160. Лаптева, Е. М. Экологическое состояние малой северной реки после аварийного выброса нефтепродуктов / Е. М. Лаптева, О. А. Лоскутова, Ю. В. Холопов // Водные ресурсы. – 2019. – Т. 46, № 5. – С. 523–532.

161. Леднев, А. В. Влияние нефтяного загрязнения на микробное сообщество торфяных почв среднего Предуралья А. В. Леднев, И. А. Скворцова // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2017. – № 1 (56). – С.47–53.

162. Леонов, А. В. Биогидрохимия морской среды и особенности трансформации биогенных веществ и нефтяных углеводородов на юго-восточном шельфе Сахалина / А. В. Леонов, В. М. Пищальник, О. В. Чичерина // Водные ресурсы. – 2016. – Т. 43, № 2. – С. 164–187.

163. Леонов, А. В. Углеводороды в Белом море: их поступление и трансформация в морской среде в разных районах / А. В. Леонов, Л. В. Семеняк, О. В. Чичерина // Водные ресурсы. – 2017. – Т. 44, № 1. – С. 38–62.

164. Ликвидация аварийных разливов нефти. Сорбционная очистка поверхности акваторий от нефтяных загрязнений: учебное пособие к спецкурсам кафедры химии нефти и органического катализа «Переработка нефти» и «Нефтехимия» / И. И. Кулакова, Г. В. Лисичкин. – Москва, 2022. – 82 с.

165. Литвинова, Т. А. Современные способы обезвреживания и утилизации нефтесодержащих отходов для ликвидации загрязнения окружающей среды / Т. А. Литвинова // Научный журнал КубГАУ. – 2016. – № 123 (09). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/09/pdf/62.pdf>

166. Лобанова, В. Д. Боны – инженерные решения по ликвидации разливов нефти и нефтепродуктов / В. Д. Лобанова, В. З. Угланова // Теория и практика современной науки. – 2016. – № 5. – Режим доступа: [http://modern-j.ru/domains_data/files/11/Lobanova%20V.%20\(Osnovnoy%20razdel\).pdf](http://modern-j.ru/domains_data/files/11/Lobanova%20V.%20(Osnovnoy%20razdel).pdf)

167. Лунин, В. В. Получение биодизельного топлива на основе липидов мицелиальных грибов / В. В. Лунин, Я. Э. Сергеева, Л. А. Галанина, И. С. Мысякина, А. А. Ивашечкин, В. И. Богдан, Е. П. Феофилова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2013. – Т. 49, № 1. – С. 53–60.

168. Лыонг, Т. М. Бактерии-нефтедеструкторы рода *Rhodococcus* – потенциальные продуценты биосурфактантов / Т. М. Лыонг, И. А. Нечаева, К. В. Петриков, И. Ф. Пунтус, О. Н. Понаморева // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – № 16. – С. 50–60.

169. Лыонг, Т. М. Методы скрининга биосурфактант-продуцирующих бактерий (мини обзор) / Т. М. Лыонг, О. Н. Понаморева, И. А. Нечаева // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. – 2019. – № 4. – С. 98–111.

170. Лыонг, Т. М. Структура и физико-химические свойства гликолипидных биосурфактантов, продуцируемых бактериями-нефтедеструкторами *Rhodococcus* sp. X5 / Т. М. Лыонг, И. А. Нечаева, К. В. Петриков, А. Е. Филонов, О. Н. Понаморева // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 72–79.

171. Маганов, М. У. Природоохранные работы на предприятиях нефтегазового комплекса. Часть 1. Рекультивация загрязненных нефтью земель в Усинском районе Республики Коми / Р. У. Маганов, М. Ю. Маркарова, В. В. Муляк, В. К. Загвоздкин, И. А. Заикин. – Сыктывкар, 2006. – 208 с.

172. Мазанко, М. С. Изменение числа почвенных микроорганизмов при сочетанном загрязнении нефтью и переменным магнитным полем промышленной частоты / М. С. Мазанко, С. И. Колесников, Т. В. Денисова // Биотехнология – от науки к практике: Мат. Всеросс. конф. В 2 т. Т. 1. – Уфа: Башкирский ГУ, 2014. – С. 46–48.

173. Маслов, М. Н. Трансформация соединений азота в тундровых почвах Северной Фенноскандии / М. Н. Маслов, М. И. Макаров // Почвоведение. – 2016. – № 7. – С. 813–821.

174. Матвеева, Н. В. Изменения морфологических свойств ржавоземов под влиянием нефтяного загрязнения / Н. В. Матвеева, Д. Н. Липатов // Вестник Московского ун-та. Сер. 17. Почвоведение. – 2015. – № 4. – С. 29–36.

175. Медведева, А. Томская область создает рынок рапсового масла / А. Медведева // Агропромышленный портал АГРО XXI. – 2019. – 26 января. – <https://www.agroxxi.ru/rossiiskie-agronovosti/tomskaja-oblast-sozdaet-rynok-rapsovogo-masla.html>

176. Мейрамкулова, К. Сравнительный анализ производительности природных и синтетических цеолитовых фильтров при очистке подземных вод / К. Мейрамкулова, А. Кыдырбекова, Д. Девришов, У. Нурбала, А. Туякбаева, С. Жангазин, Р. Уалиева, В. Колпакова, Ю. Еремеева, Т. Мкилима // Вода. – 2023. – № 15. – С. 588. <https://doi.org/10.3390/w15030588>

177. Мелехина, Е. Н. Восстановительные сукцессии биоты в торфяной почве с нефтяным загрязнением при различных методах биологической рекультивации / Е. Н. Мелехина, М. Ю. Маркарова, Т. Н. Щемелинина, Е. М. Анчугова, В. В. Канев // Почвоведение. – 2015. – № 6. – С. 740–750.

178. Мелехина, Е. Н. Комплексная оценка эффективности методов рекультивации загрязненных нефтью почв в условиях Европейского Севера России / Е. Н. Мелехина, М. Ю. Маркарова, Е. М. Анчугова, Т. Н. Щемелинина., В. А. Канев // Вестник Коми научного центра УрО РАН. – 2016а. – № 31. – С. 144–152.

179. Мелехина, Е. Н. Определение эффективности методов рекультивации загрязнённых нефтью почв / Е. Н. Мелехина, М. Ю. Маркарова, Е. М. Анчугова, Т. Н. Щемелинина, В. А. Канев // Известия Коми научного центра УрО РАН. – 2016б. – № 3 (27). – С. 61–70.

180. Мелехина, Е. Н. Оценка состояния загрязнённых нефтью экосистем европейской субарктики: мультидисциплинарный подход / Е. Н. Мелехина, В. А. Канев, М. Ю. Маркарова, С. М. Надежкин, А. Б. Новаковский, А. А. Таскаева, Д. В. Тарабукин, И. О. Велегжанинов, Е. Е. Расова // Теоретическая и прикладная экология. – 2020. – № 2. – С. 123–129.

181. Методика выполнения измерений рН в водах потенциометрическим методом. ПНД Ф 14.1:2:3:4.121-97 (ФР.1.31.2007.03794). – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2004.

182. Методика выполнения измерений анионных поверхностно-активных веществ в питьевых, природных и сточных вод. ПНД Ф 14.1:2:4.158-2000 (ФР.1.31.2014.17189) – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2000.

183. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв на анализаторе жидкости «Флюорат-02». ПНД Ф 16.1:2.21-98. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. – М., 1998. – 15 с.

184. Методика выполнения измерений массовой концентрации элементов в пробах питьевой, природных, сточных вод и атмосферных осадков методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. ПНД Ф 14.1:2:4.135-98. – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2008.

185. Методика выполнения измерений массовых концентраций взвешенных веществ и прокаленных взвешенных веществ в пробах питьевых, природных и сточных вод гравиметрическим методом. ПНД Ф 14.1:2:4.254-2009 (ФР.1.31.2013.13901). – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2013а.

186. Методика выполнения измерений массовых концентраций ортофосфатов, полифосфатов фотометрическим методом. ПНД Ф 14.1:2:4.248-07

(ФР.1.31.2016.22975). – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2016в.

187. Методика выполнения измерений цветности питьевых, природных и сточных вод фотометрическим методом. ПНД Ф 14.1:2:4.207-04 (ФР.1.31.2007.03807). – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2007.

188. Методика измерений № 88-17641-004-2016 (ФР.1.31.2016.23502). Почвы, грунты, донные отложения, торф и продукты его переработки, твердые материалы растительного, животного, природного и производственного происхождения, химические соединения. Методика измерений массовой доли азота, углерода, органического вещества на элементном анализаторе EA 1110 (CHNS-O). – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2016а.

189. Методика измерений № 88-17641-005-2016 (ФР.1.31.2016.23500). Почвы, грунты, донные отложения, торф и продукты его переработки. Методика измерений массовой доли хлорид-ионов водорастворимых соединений меркуриметрическим методом. – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН, 2016б.

190. Методика измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв и грунтов флуориметрическим методом на анализаторе жидкости «Флюорат-02». ПНД Ф 16.1:2.21-98 (М 03-03-2012). – СПб.: Группа компаний «ЛЮМЭКС», 2012.

191. Методика измерений массовой концентрации нитрат-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с салициловой кислотой. ПНД Ф 14.1:2:4.4-95 (ФР.1.31.2013.16009). – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2013б.

192. Методика измерений массовой концентрации сульфат-иона в питьевых, по-верхностных и сточных водах методом турбидиметрией, РД 52.24.405-2005. – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2005.

193. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Отв. ред. Д. Г. Звягинцев. – Москва: Изд-во Моск. Ун-та, 1991. – 304 с.

194. Михайлюк, А. В. Использование глауконита при решении проблем экологической защиты и восстановления природных свойств грунтов и водной среды / А. В. Михайлюк, Е. Н. Левченко, М. Л. Левченко // Разведка и охрана недр. – 2019. – № 1. – С. 62–67.

195. Мишустин, Е. Н. Ассоциация почвенных микроорганизмов / Е. Н. Мишустин. – М.: Наука, 1975. – 114 с.
196. Мишустин, Е. Н. Почвенные организмы как компонент биогеоценоза / Е. М. Мишустин. – М.: Наука, 1984. – С. 5–24.
197. Могилевская, И. В. Микробные сообщества пелагиали и донных отложений Северного Каспия в 2015–2017 гг. / И. В. Могилевская, О. В. Колотова, Н. Б. Водовский. – Волгоград : ВолгГТУ, 2019. – 72 с.
198. Мордкович, В. Г. Зооэдафон Западно-Сибирской северной тайги. Пространственная экология населения почвообитающих членистоногих естественных и нарушенных местообитаний / В. Г. Мордкович, И. И. Любечанский, О. Г. Березина, И. И. Марченко, В. С. Андриевский. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 168 с.
199. Морозов, В. И. Современный способ повышения эффективности камер сгорания тепловых двигателей / В. И. Морозов, Ю. М. Терещенко, И. В. Морозова // Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). – 2016. – Т. 7(28). – С. 29–31.
200. Морозов, Н. В. Управляемая биоремедиация нефтезагрязнений в природных водах органическими сорбентами разнообразного происхождения / Н. В. Морозов // Вестник Казанского технол. ун-та. – 2017. – Т. 20, № 11. – С. 137–141.
201. Морозова, Т. Н. Использование бактериального препарата для ремедиации техногенно загрязненных почв / Т. Н. Морозова, Е. С. Белик, Л. В. Рудакова // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Прикладная экология. Урбанистика. – 2015. – №3(19). – С. 69–81.
202. Мустафин, И. А. Разработка комплексной установки утилизации нефтяных шламов: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.17.07 / Мустафин Ильдар Ахатович – Уфа, 2013. – 23 с.
203. Мустафин, С. К. Радиационный контроль и мониторинг процесса нефтегазодобычи как инструменты управления экологическими рисками предприятий / С. К. Мустафин, А. Н. Трифонов // Безопасность

жизнедеятельности предприятий в промышленно развитых регионах: Мат. XI междунар. науч.-практ. конф. – Кемерово: КГТУ, 2017. – С. 123–127.

204. Мязин, В. А. Разработка способов повышения эффективности биоремедиации почв Кольского севера при загрязнении нефтепродуктами (в условиях модельного эксперимента) : дис. канд. биол. наук / 03.02.08 / Мязин Владимир Александрович. – Апатиты, 2014. – 159 с.

205. Нагорных, Е. А. Модифицирование цеолитов с целью придания дополнительных сорбционных свойств при очистке воды. / Е. А. Нагорных, Д. В. Мартемьянов, П. Е. Слядников // Перспективы развития фундаментальных наук : Мат. XI Междунар. конф. студентов и молодых ученых. – Томск: Национальный Исследовательский Томский политехнический университет, 2014. – С. 962–964.

206. Нгуен, В. Т. Влияние липопептидных биосурфактантов на степень биодеградации нафталина бактериями штамма *Pseudomonas mendocina* / В. Т. Нгуен, К. М. Буй, В. Т. Чан // Актуальная биотехнология. – 2018. – № 3 (26). – С. 266.

207. Неделин, Н. А. Экологический мониторинг почв, загрязненных нефтепродуктами, методом биоиндикации / Н. А. Неделин // Химия и экология-2015: Мат. междунар. науч.-практ. конф. – Уфа: Изд-во УГНТУ, 2015. – С. 331–333.

208. Немировская, И. А. Изменчивость концентраций и состава углеводов во фронтальных зонах Карского моря / И. А. Немировская // Океанология. – 2015. – Т. 55, № 4. – С. 497–507.

209. Немировская, И. А. Трансформация углеводов в зоне река – море в Арктике / И. А. Немировская, З. Ю. Реджепова, И. П. Трубкин // Проблемы Арктики и Антарктики. – 2016. – № 2 (108). – С. 64–78.

210. Немировская, И. А. Углеводы в водах и донных осадках Белого моря / И. А. Немировская, А. П. Трубкин, А. В. Травкина // Проблемы Арктики и Антарктики. – 2015. – № 3(105). – С. 77–89.

211. Нефтяное пятно после ЧП в Норильске удалось сдержать бонами перед озером Пясино // Агентство экономической информации Прайм. – 2020. – 02 июня. – Режим доступа: <https://1prime.ru/energy/20200602/831554798.html>.

212. Нечаева, И. А. Биодegradация углеводородов нефти психротрофными микроорганизмами-деструкторами: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.23 / Нечаева Ирина Александровна. – Пущино, 2009. – 174 с.

213. Новоселова, Е. И. Роль ферментативной активности почв в осуществлении ею трофической функции в условиях нефтяного загрязнения / Е. И. Новоселова, Н. А. Киреева, М. И. Гарипова // Вестник Башкирского ун-та. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 474–479.

214. О нормативе «Допустимое остаточное содержание нефти и нефтепродуктов в донных отложениях после проведения восстановительных работ на водных объектах Ханты-Мансийского Автономного Округа – Югры» [Постановление Правительства Ханты-Мансийского автономного округа – Югры: принято 23.11.2018 № 432-п]. – Ханты-Мансийск, 2018. – 4 с. – Режим доступа: <https://prirodnadzor.admhmao.ru/dokumenty/hmao/2103596/>

215. О проведении рекультивации и консервации земель (с «Правилами проведения рекультивации и консервации земель») : [постановление Правительства РФ: принято 10 июля 2018 г. № 800 : ред. от 07.03.2019] – 2019. – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_302235/92d969e26a4326c5d02fa79b8f9cf4994ee5633b/

216. Об утверждении региональных нормативов допустимого остаточного содержания нефтяных углеводородов и продуктов их трансформации в почвах и в донных отложениях водных объектов на территории Ненецкого автономного округа: [постановление Администрации Ненецкого автономного округа: принято 15 декабря 2011 года № 293-п: в ред. от 17.08.2020 № 221-п.]. – 2020. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/895219741>

217. Оберман, Н. Г. Современные и прогнозируемые изменения мерзлотных условий европейского Северо-Востока Российской Федерации / Н.

Г. Оберман, И. Г. Шеслер // Проблемы Севера и Арктики Российской Федерации. – 2009. – Вып.9.– С. 96–106.

218. Обзор рынка нефтяных сорбентов в России [Электронный ресурс] / М.: Инфомайн, 2008. – 42 с. – Режим доступа: <http://www.infomine.ru/research/18/300>

219. Овсянникова, В. С. Биодеструкция углеводородов высоковязкой нефти почвенными микроорганизмами / В. С. Овсянникова, Д. А. Филатов, Л. К. Алтунина, Л. И. Сваровская // Химия в интересах устойчивого развития. – 2014. – № 22. – С. 489–495.

220. Озеро площадью в 735 кв. км стало мертвым после разлива нефтепродуктов структуры «Норникеля» // Росбалт. – 2020. – 18 сентября. – Режим доступа: <https://www.rosbalt.ru/russia/2020/09/18/1864137.html>

221. Органоминеральный сорбент нефтепродуктов ЭКОЛАН [Электронный ресурс]: официальный сайт ООО «ТИЭТ». – Режим доступа: <https://www.tiet-sorbent.ru/granular%20sorbents/ecolan%20sorbent.htm>

222. Отчет об устойчивом развитии Группы «ЛУКОЙЛ» за 2020 год [электронный ресурс]. – 2020. – 214 с. – Режим доступа: <https://lukoil.ru/InvestorAndShareholderCenter/ReportsAndPresentations/SustainabilityReport>

223. Оценка эффективности технологий утилизации нефтеотходов для сохранения биоразнообразия наземных экосистем в НАО и Республике Коми : отчет о НИР. – Москва: ФГБНУ ВНИИССОК, 2015. – 101 с.

224. Пантюхина, Ж. Л. Оценка возможности использования сорбентов на основе отхода производства (обезвоженного осадка активного ила) / Ж. Л. Пантюхина, Т. Н. Щемелинина, Е. М. Анчугова, В. В. Володин // Экологические проблемы развития агроландшафтов и способы повышения их продуктивности: Мат. Международ. науч. экол. конф. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, 2018. – С. 158–160.

225. Паринкина, О. М. Биологическая продуктивность бактериальных сообществ тундровых почв / О. М. Паринкина // Биогеоценозы Таймырской тундры и их продуктивность. Вып.2. – Л.: Наука, 1973. – С. 56.

226. Паринкина, О. М. К вопросу о продуктивности микробных сообществ в некоторых почвах Западного Таймыра / О. М. Паринкина // Вопросы численности, биомассы и продуктивности почвенных микроорганизмов. – Л.: Наука, 1972. – 89 с.

227. Паринкина, О. М. Микрофлора тундровых почв / О. М. Паринкина. – Л.: Наука, 1989. – 76 с.

228. Пархоменко, А. Н. Использование микробиологических показателей для оценки состояния почв в условиях антропогенного воздействия / А. Н. Пархоменко, А. А. Стогниева // Вестник Оренбургского государственного ун-та. – 2017. – № 12 (212). – С. 90–93.

229. **Патент РФ 2312891**, МПК С12N 1/20, С02F 3/34, С02F 101/30, В09С 1/10, С12R 1/01, С12R 1/38. Ассоциация штаммов бактерий, продуцирующих биоэмульгаторы, для деградации нефти и нефтепродуктов в почвах, пресной и морской воде [Текст] / Филонов А. Е., Кошелева И. А., Шкидченко А. Н., Пырченкова И. А., Пунтус И. Ф., Гафаров А. Б., Боронин А. М.; заявитель и патентообладатель Филонов Андрей Евгеньевич, Боронин Александр Михайлович. – № 2006107131/13; заявл. 10.03.2006.; опубл. 20.12.2007, Бюл. № 35. – 6 с. ил.

230. **Патент РФ 2378060**, МПК В09С 1/10, С12N 1/26. Биопрепарат для очистки почв от загрязнений нефтью и нефтепродуктами, способ его получения и применения [Текст] / Филонов А. Е., Кошелева И. А., Самойленко В. А., Шкидченко А. Н., Нечаева И. А., Пунтус И. Ф., Гафаров А. Б., Якшина Т. В., Боронин А. М., Петриков К. В.; заявитель и патентообладатель Филонов Андрей Евгеньевич, Шкидченко Александр Николаевич, Боронин Александр Михайлович – № 2007125403/13; заявл. 05.07.2007.; опубл. 10.01.2010, Бюл. № 1. – 15 с. ил.

231. **Патент РФ 2446900**, МПК В09С 1/10. Способ очистки мерзлотных почв от нефти спорообразующими бактериями *Bacillus subtilis* [Текст] / Неустроев

М. П., Тарабукина Н. П., Неустроев М. М., Сазонов Н. Н., Парникова С. И., Степанова А. М. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии. – № 2010129158/13 ; заявл. 13.07.2010. ; опубл. 10.04.2012, Бюл. № 10. – 4 с.

232. **Патент РФ 2487920**, МПК C10G 3/00, C10L 5/40, C11C 3/04, C02F 1/00. Способ получения биодизельного топлива из илов водоемов и/или осадков канализационных очистных сооружений [Текст] / Гладышев М. И., Кучкина А. Ю., Сущик Н. Н. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский Федеральный университет". – № 2013118363/10 ; заявл. 24.11.2011. ; опубл. 20.07.2013, Бюл. № 20. – 7 с.

233. **Патент РФ 2494824**, МПК B09B 3/00. Способ переработки нефтешламов с использованием СВЧ электромагнитного воздействия [Текст] / Ковалева Л. А., Ахатов И. Ш., Зиннатуллин Р. Р., Миннигалимов Р. З., Мусин А. А., Благочиннов В. Н., Валиев Ш. М. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Башкирский Государственный университет". – № 2012103820/13 ; заявл. 03.02.2012. ; опубл. 10.10.2013, Бюл. № 28. – 9 с. ил.

234. **Патент РФ 2495088**, МПК C10G 9/14, C10B 55/00, C10B 39/06. Способ переработки нефтяных остатков и нефтешлама процессом замедленного коксования [Текст] / Валявин Г. Г., Запорин В. П., Сухов С. В., Валявин К. Г., Крылов В. А., Якунин В. И., Калимуллин Т. И., Мансуров Т. Ф., Бидило И. В. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Информ-Технология". – № 2012130843/04 ; заявл. 19.07.2012. ; опубл. 10.10.2013, Бюл. № 28. – 9 с. ил.

235. **Патент РФ 2501852**, МПК C12N 1/26, C12Q 1/02, C02F 3/34, B09C 1/02, C12R 1/00. Препарат для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов [Текст] / Щемелинина Т. Н., Маркарова М. Ю., Шарапова И. Э. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук" – № 2011124577/10 ; заявл. 16.06.2011. ; опубл. 20.12.2013, Бюл. № 35. – 8 с.

236. **Патент РФ 2506303**, МПК C10G 1/00, B09B 3/00. Способ переработки нефтесодержащих шламов [Текст] / Пивсаев В. Ю., Красников П. Е., Ермаков В. В., Пименов А. А., Радомский В. М., Быков Д. Е. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Самарский государственный технический университет. – № 2012125809/04; заявл. 20.06.2012. ; опубл. 10.02.2014, Бюл. № 4. – 9 с. ил.

237. **Патент РФ 2521707**, МПК B09C 1/00. Способ биопреобразования нефтяных шламов и отходов добычи и переработки нефти [Текст] / Альпин М. М., Иовенко, В. Т., Шилков, Н. А., Липовцын Ю. Л. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "ХомоБиоЦикл". – № 2013102752/13 ; заявл. 22.01.2013; опубл. 10.07.2014, Бюл. № 9. – 7 с.

238. **Патент РФ 2524111**, МПК B01J 20/18, B01J 20/22, B01J 20/30, C02F 1/28. Способ очистки сточных вод от тяжелых металлов методом адсорбции, фильтрующий материал (сорбент) и способ получения сорбента [Текст] / Макаров А. В., Халиуллин А. К., Руш Е. А., Обуздина М. В., Игнатова О. Н. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение профессионального образования Иркутский государственный университет путей сообщения. – № 2012100223/05 ; заявл. 10.01.2012. ; опубл. 27.07.2014, Бюл. № 21. – 5 с.

239. **Патент РФ 2528863**, МПК B01J 20/22, B01J 20/26, C02F 3/32, C02F 1/28. Биоразлагаемый композиционный сорбент нефти и нефтепродуктов [Текст] / Дедов А. Г., Иванова Е. А., Белоусова Е. Е., Кашеева П. Б., Карпова Е. Ю., Идиатулов Р. К., Кирпичников М. П., Лобакова Е. С., Васильева С. Г., Соловченко А. Е. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Российский государственный университет нефти и газа имени И.М.

Губкина. – № 2013125542/10 ; заявл. 03.06.2013. ; опубл. 20.09.2014, Бюл. № 26. – 7 с.

240. **Патент РФ 2529771**, МПК C02F 3/34, C02F 1/28, C12N 11/02, C12R 1/39. Биосорбент для ликвидации нефти с поверхности водоемов [Текст] / Галкина Н. А., Галкин Е. А., Катаева И. В., Шафран В. Н., Назаренко О. А., Вяткин К. А., М. В. Мальцева, Ковальчук Е. А., Кузнецова Т. А.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Уралэкоресурс". – № 2013118363/10 ; заявл. 19.04.2013. ; опубл. 27.09.2014, Бюл. № 27. – 8 с.

241. **Патент РФ 2536906**, МПК B03B 9/06. Способ переработки нефтесодержащих отходов и установка для его осуществления [Текст] / Новахов Г. А., Бобович Б. Б. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "РосЭкология". – № 2018142650 ; заявл. 26.07.2013. ; опубл. 27.12.2014, Бюл. № 36. – 8 с. ил.

242. **Патент РФ 2538390**, МПК C13K 1/02, C13K 1/06, C13K 11/00. Способ получения сахаросодержащих гидролизатов для производства биотоплива (биоэтанола) [Текст] / Донцов А. Г.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. – № 2012128098/13 ; заявл. 03.07.2012. ; опубл. 10.01.2015, Бюл. № 1. – 6 с. ил.

243. **Патент РФ 2539744**, МПК C12N 1/19, C12P 7/64. Дрожжи рода *Yarrowia*, обладающие способностью внутриклеточно накапливать сложные эфиры жирных кислот, и способ микробиологического синтеза таких эфиров [Текст] / Юзбашева Е. Ю., Юзбашев Т. В., Мостова Е. Б., Перковская Н. И., Выборная Т. В., Соболевская Т. И., Синеокий С. П. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное унитарное предприятие "Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов" – № 2013142340/10 ; заявл. 17.09.2013. ; опубл. 27.01.2015, Бюл. № 3. – 15 с. ил.

244. **Патент РФ 2540620**, МПК C02F 9/14, C02F 3/32, C02F 1/28, B01D 24/00. Устройство для очистки поверхностных сточных вод [Текст] / Щукин И. С.,

Мелехин А. Г. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Пермский национальный исследовательский политехнический университет" – № 2013136247/05 ; заявл. 10.08.2013. ; опубл. 10.02.2015, Бюл. № 4. – 6 с. ил.

245. **Патент РФ 2541957**, МПК E21B 21/06. Способ комплексной очистки бурового раствора, буровой сточной воды и обеззараживания бурового шлама в ходе бурения скважин, без строительства амбаров, и устройств для осуществления способа [Текст] / Аверьянов В. Ю., Аверьянов Е. В. ; заявитель и патентообладатель Аверьянов Владимир Юрьевич, Аверьянов Евгений Владимирович. – № 2013152592/03 ; заявл. 26.11.2013 ; опубл. 20.02.2015, Бюл. № 5. – 12 с. ил.

246. **Патент РФ 2551560**, МПК C04B 28/02, C04B 18/04, E02D 3/12, C04B 111/20, C04B 111/27. Дорожно-строительный композиционный материал [Текст] / Заболоцкий С. С. ; заявитель и патентообладатель Заболоцкий Станислав Сергеевич, Общество с ограниченной ответственностью "Сибпромстрой". – № 2013128439/03 ; заявл. 24.06.2013. ; опубл. 27.05.2015, Бюл. № 16. – 14 с. ил.

247. **Патент РФ 2560155**, МПК C10G 9/00, C10G 1/00. Способ термохимической переработки нефтяных шламов в смесях с твердым топливом для получения жидких продуктов [Текст] / Флисюк О.М., Круковский О. Н., Шининов Т. Н., Герасимов А. М., Константинов В. А., Борисова Е. И., Муратов О. В. ; заявитель и патентообладатель Открытое акционерное общество "Нефтяная компания "Роснефть" – № 2014137035/04; заявл. 12.09.2014. ; опубл. 20.08.2015, Бюл. № 23. – 7 с.

248. **Патент РФ 2577837**, МПК C09C 1/02, C09C 3/00, C08J 11/00, C08L 95/00. Способ получения активированного минерального порошка [Текст] / Ишков А. В., Аكوпова Г. С., Стрекалова Л. В., Попов П. Б. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Научно-исследовательский институт газов и газовых технологий - Газпром ВНИИГАЗ". – № 2014125463/05 ; заявл. 24.06.2013. ; опубл. 24.06.2014, Бюл. № 8. – 9 с.

249. **Патент РФ 2581402**, МПК В01J 20/26, В01J 20/30. Способ получения мелкодисперсного сорбента нефти и нефтепродуктов из отходов полиэтилена низкой и высокой плотности [Текст] / Почивалов К. В., Мизеровский Л. Н., Юров М. Ю., Сиганов Д. Л. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской Академии Наук, Сиганов Д. М. – № 2014118721/05 ; заявл. 07.05.2014. ; опубл. 20.04.2018, Бюл. № 11. – 7 с.

250. **Патент РФ 2584031**, МПК В09С 1/10. Способ переработки нефтешламов и очистки замазученных грунтов [Текст] / Чертес К. Л., Быков Д. Е., Тупицына О. В., Пыстин В. Н., Сафронова Н. А., Самарина О. А. ; заявитель и патентообладатель Открытое акционерное общество "Куйбышевский нефтеперерабатывающий завод" – № 2014149225/13 ; заявл. 05.12.2014. ; опубл. 20.05.2016, Бюл. № 6. – 13 с. ил.

251. **Патент РФ 2586645**, МПК С04В 33/132. Керамическая масса для производства кирпича [Текст] / Щепочкина Ю. А. ; заявитель и патентообладатель Щепочкина Юлия Алексеевна – № 2015115164/03 ; заявл. 22.04.2015. ; опубл. 10.06.2016, Бюл. № 16. – 4 с.

252. **Патент РФ 2601973**, МПК В09С 1/10, В09С 1/08. Способ очистки нефтешламов и замазученного грунта [Текст] / Слюсаренко В. В., Бурлака Н. В., Бурлака В. А., Русинов А. В., Русинов Д. А., Ищенко Е. П. ; заявитель и патентообладатель Слюсаренко Владимир Васильевич, Бурлака Николай Владимирович, Бурлака Владимир Александрович, Русинов Алексей Владимирович – № 2015118000/13 ; заявл. 13.05.2015. ; опубл. 10.11.2016, Бюл. № 31. – 9 с. ил.

253. **Патент РФ 2602179**, МПК В09С 1/10. Способ переработки нефтешламов и очистки замазученных грунтов [Текст] / Бурлака В. А., Бурлака Н. В., Ищенко Е. П. ; заявитель и патентообладатель Бурлака Владимир Александрович, Бурлака Николай Владимирович, Ищенко Евгений Павлович – № 2015134632/13 ; заявл. 17.08.2015. ; опубл. 10.11.2016, Бюл. № 31. – 7 с.

254. **Патент РФ 2602566**, МПК C02F 1/48, C02F 1/40. Способ очистки воды от нефтепродуктов с помощью магнитной жидкости и устройство его реализации [Текст] / Страдомский Ю. И., Морозов Н. А. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Ивановский государственный энергетический университет имени В.И. Ленина" – № 2015112535/05 ; заявл. 06.04.2015. ; опубл. 20.11.2016, Бюл. № 32. – 11 с. ил.

255. **Патент РФ 2619322**, МПК B01J 20/20, B01J 20/26, B01J 20/30. Способ получения композиционного угольно-фторопластового сорбента для очистки сточных вод от нефтепродуктов и органических загрязнителей [Текст] / Харлямов Д. А., Фазуллин Д. Д., Маврин Г. В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет" – № 2016115671 ; заявл. 21.04.2016. ; опубл. 15.05.2017, Бюл. № 14. – 10 с. ил.

256. **Патент РФ 2620266**, МПК C10G 1/00, B09B 3/00. Способ переработки нефтесодержащих отходов на основе нефтешламов, мазута или их смеси с получением водоземulsionного топлива [Текст] / Пименов Ю. А., Ефимова Н. Л., Покровский А. В., Зубакин С. И., Анил К. ; заявитель и патентообладатель Пименов Юрий Александрович, Ефимова Наталья Леонидовна, Покровский Александр Владимирович, Зубакин Сергей Иванович, Кумар Анил – № 2016132391 ; заявл. 05.08.2016. ; опубл. 24.05.2017, Бюл. № 15. – 9 с. ил.

257. **Патент РФ 2624038**, МПК C02F 3/34, C02F 3/32. Способ очистки водных объектов от пленочных и эмульгированных нефтепродуктов [Текст] / Ягафарова Г. Г., Акчурина Л. Р., Сафаров А. Х., Федорова Ю. А., Леонтьева С. В., Ягафарова Д. И., Фатихова Н. И. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Уфимский государственный нефтяной технический университет" – № 2016112076 ; заявл. 30.03.2016. ; опубл. 30.06.2017, Бюл. № 19. – 10 с. ил.

258. **Патент РФ 2624063**, МПК C12N 1/20, C02F 3/34, B09C 1/10, C12R 1/06. Штамм *Arthrobacter rhombi* ARC 16 ВКПМ Ас-1988 –деструктор нефти и нефтепродуктов [Текст] / Шестаков А. И., Сережкин И. Н., Ламова Я. А., Князюк М. К., Федоренко В. Н., Шабалин Н. В., Шестакова О. О., Митрофанова Т. И., Исаченко А. И. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Арктический научно-проектный центр шельфовых разработок" – № 2015152274 ; заявл. 23.03.2016. ; опубл. 30.06.2017, Бюл. № 19. – 5 с.

259. **Патент РФ 2625107**, МПК B01J 20/24, B01J 20/30. Способ получения гранулированного сорбента на основе тростника обыкновенного [Текст] / Каблов В. Ф., Костин В. Е., Хлобжева И. Н., Соколова Н. А., Кочетков В. Г., Сторожева А. С. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Волгоградский государственный технический университет". – № 2016137316; заявл. 19.09.2016. ; опубл. 11.07.2017, Бюл. № 20. – 7 с.

260. **Патент РФ 2625498**, МПК B09B 3/00. Способ утилизации нефтешлама в качестве грунта основания вертикального резервуара [Текст] / Грузин А. В., Токарев В. В., Шалай В. В., Беляев Н. М. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Омский государственный технический университет". – № 2016112254 ; заявл. 31.03.2016 ; опубл. 14.07.2017, Бюл. № 20. – 5 с. ил.

261. **Патент РФ 2633690**, МПК C12N 1/20, C02F 3/34, B09C 1/10, C12R 1/01. Микробный препарат для утилизации углеводородных загрязнений [Текст] / Шестаков А. И., Сережкин И. Н., Ламова Я. А., Гавирова Л. А., Шестакова О. О., Ершова О. А., Шабалин Н. В., Болдырев М. Л., Павлов В. А., Исаченко А. И. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Арктический научно-проектный центр шельфовых разработок" – № 2015152274 ; заявл. 07.12.2015. ; опубл. 16.10.2017, Бюл. № 29. – 5 с.

262. **Патент РФ 2637132**, МПК В09С 1/10. Биопрепарат для очистки грунта от загрязнений нефтью и нефтепродуктами [Текст] / Кураков А. В., Поспелов М. Е., Микоян Т. Ю., Ширинов Р. А., Тишкова Э. А., Берестовская Ю. Ю., Свитнев А. И., Микоян Ю. Р., Стихеев Н. А. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Сити Строй". – № 2017111842 ; заявл. 07.04.2017. ; опубл. 30.11.2017, Бюл. № 21. – 5 с.

263. **Патент РФ 2638855**, МПК В01J 20/32, В01J 20/24, В01J 20/26. Способ получения сорбента для очистки водной поверхности от нефти и нефтепродуктов [Текст] / Уразаев М. Н., Теплоухов В. Л. ; заявитель и патентообладатель Уразаев Михаил Николаевич, Теплоухов Владимир Леонидович – № 2017112845 ; заявл. 13.03.2017. ; опубл. 18.12.2017, Бюл. № 35. – 10 с.

264. **Патент РФ 2645254**, МПК С12N 1/14, С02F 3/34, В09С 1/10, С12R 1/645, СПК С12N 1/14, С02F 3/34, В09С 1/10, С12R 1/645. Штамм *Cadophora malorum* ВКМ F-4708D для активизации биодеструкции твердых парафинов и полициклических ароматических соединений в воде, жидких шламах, сточной воде, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, и для трансформации углеводородных ксенобиотиков в биомассу липидных метаболитов с целью получения биодизеля [Текст] / Мешкело С. М., Щемелинина Т. Н., Анчугова Е. М., Матистов Н. В., Ковалева В. А., Маркарова М. Ю. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС". – № 2016150503 ; заявл. 21.12.2016. ; опубл. 19.02.2018, Бюл. № 5. – 10 с. ил.

265. **Патент РФ 2646084**, МПК В01J 20/24, В01J 20/26, В01J 20/06, СПК В01J 20/0229, В01J 20/24, В01J 20/261. Магнитный сорбент для сбора нефти, масел и нефтепродуктов [Текст] / Павлова А. Н., Горленко Н. П., Саркисов Ю. С., Шепеленко Т. С., Саркисов С. Ю., Черемных О. С., Заева О. Г., Цветкова Е. Г. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Томский государственный архитектурно-строительный университет". – № 2016145018 ; заявл. 16.11.2016. ; опубл. 01.03.2018, Бюл. № 7. – 7 с.

266. **Патент РФ 2646242**, МПК В09С 1/00, СПК В09С 1/00. Способ биологической рекультивации нефтезагрязнённых земель с помощью избыточного активного ила очистных сооружений хозяйственно-бытовых сточных вод [Текст] / Никандрова Е. В. ; заявитель и патентообладатель Публичное акционерное общество "Транснефть", Общество с ограниченной ответственностью "Транснефть - Балтика". – № 2010129158/13 ; заявл. 14.06.2017. ; опубл. 02.03.2018, Бюл. № 7. – 16 с.

267. **Патент РФ 2646755**, МПК С10L 1/02, С07С 67/03, С11С 3/10, СПК С10L 1/02, С07С 67/03, С11С 3/10. Линия производства биодизельного топлива [Текст] / Ткач В. В., Шевцов С. А. ; заявитель и патентообладатель Ткач Владимир Владимирович, Шевцов Сергей Александрович – № 2017112845 ; заявл. 13.04.17. ; опубл. 07.03.2018, Бюл. № 7. – 12 с. ил.

268. **Патент РФ 2649357**, МПК F23G 5/027, F23G 7/05, СПК F23G 5/027, F23G 7/05. Пиролизная установка для утилизации нефтешламов [Текст] / Соловьев Е. А., Коленчуков О. А., Петровский Э. А. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Сибирский федеральный университет" – № 2017123417 ; заявл. 03.07.2017. ; опубл. 02.04.2018, Бюл. № 10. – 9 с. ил.

269. **Патент РФ 2656373**, МПК В09С 1/00, СПК В09С 1/00, В09С 1/08, В01D 15/00, А01В 79/02. Способ рекультивации почв, подвергнутых загрязнению нефтью и нефтепродуктами [Текст] / Булуктаев, А. А. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Калмыцкий государственный университет". – № 2015113875 ; заявл. 14.04.2015; опубл. 05.06.2018, Бюл. № 16. – 6 с.

270. **Патент РФ 2661086**, МПК С12N 1/12, С12Р 23/00, С12R 1/89, СПК С12N 1/12, С12Р 23/00, С12R 1/89. Способ культивирования микроводоросли *Coelastrella rubescens* для получения каротиноидов и липидов [Текст] / Минюк Г. С., Чубчикова И. Н., Дробецкая И. В., Данцюк Н. В., Челибиева Э. С., Сидоров. А. Р., Соловченко А. Е. ; заявитель и патентообладатель Федеральное

государственное бюджетное учреждение науки "Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН". – № 2017110990 ; заявл. 01.10.2018. ; опубл. 11.07.18, Бюл. № 20. – 17 с. ил.

271. **Патент РФ 2665440**, МПК В01J 20/30, В01J 20/24, СПК В01J 20/3028, В01J 20/3078, В01J 20/24. Способ получения магнитного сорбента [Текст] / Ушакова Е. С. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кузбасский государственный технический университет имени Т.Ф. Горбачева" – № 2017101763 ; заявл. 19.001.2017. ; опубл. 29.08.2018, Бюл. № 25. – 5 с.

272. **Патент РФ 2681831**, МПК С12N 1/20, С02F 3/34, В09С 1/10, С12R 1/01, СПК С12N 1/20, С02F 3/34, В09С 1/10, С12R 1/01. Препарат для биодegradации нефтепродуктов и способ его получения [Текст] / Волков М. Ю., Абдуллин Р. М., Аникин С. В., Венков Д. А., Салихов З. С. ; заявитель и патентообладатель Акционерное общество "Альфахимпром". – № [2016150216](#) ; заявл. 20.12.2016. ; опубл. 12.03.2019, Бюл. № 8. – 11 с.

273. **Патент РФ 2685214**, МПК С08L 95/00, С08L 53/02, СПК С08L 95/00, С08L 53/02. Способ переработки нефтешламов с использованием СВЧ электромагнитного воздействия [Текст] / Красников П. Е., Пименов А. А., Быков Д. Е., Тыщенко В. А. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный технический университет". – № 2017136947 ; заявл. 19.10.2017. ; опубл. 16.04.2019, Бюл. № 11. – 5 с.

274. **Патент РФ 2691422**, МПК Е21В 21/01, СПК Е21В 21/01, Е21В 41/005. Способ обработки нефтешлама [Текст] / Разумов В. Ю., Назаров В. Д., Назаров М. В. ; заявитель и патентообладатель Назаров М. В. – № 2018113932 ; заявл. 16.04.2018. ; опубл. 13.06.2019, Бюл. № 17. – 12 с. ил.

275. **Патент РФ 2692629**, МПК С12N 1/20, С02F 3/34, В09С 1/10, С12R 1/38, СПК С12N 1/20, С02F 3/34, В09С 1/10, С12R 1/38. Штамм бактерий *Pseudomonas azotoformans* для биоконверсии углеводородов из загрязненных нефтью и нефтепродуктами вод в источник биодизеля [Текст] / Щемелинина Т.

Н., Анчугова Е. М., Маркарова М. Ю., Лаптева Е. М. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр "Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук" – № 2018140168 ; заявл. 14.11.2018. ; опубл. 25.06.19, Бюл. № 18. – 11 с. ил.

276. **Патент РФ 2700445**, МПК В09В 3/00, СПК В09В 3/00. Способ очистки нефтесодержащих донных отложений [Текст] / Несват Е. А., Шапошникова О. В., Бондарь А. А., Белявский О. Г., Глазов А. Г., Щербин Ю. Н. ; заявитель и патентообладатель Акционерное общество "ГАЗПРОМНЕФТЬ-ОМСКИЙ НПЗ". – № 2019106127 ; заявл. 05.03.2019. ; опубл. 17.09.2019, Бюл. № 26. – 19 с. ил.

277. **Патент РФ 2704654**, МПК В09С 1/00, СПК В09С 1/00. Способ утилизации нефтешламов [Текст] / Митриковский А. Я., Скипин Л. Н., Гаева Е. В., Захарова Е. В., Тарасова С. С., Бачтина С. П., Козина Ю. А., Буслаева Д. Г., Паутова А. Е. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Тюменский индустриальный университет". – № 2018134852 ; заявл. 01.10.2018. ; опубл. 31.10.2019, Бюл. № 31. – 6 с.

278. **Патент РФ 2705337**, МПК С10С 3/04, СПК С10С 3/04. Способ получения дорожного битума [Текст] / Никитченко Н. В., Красников П. Е., Тюкилина П. М., Пименов А. А., Тыщенко В. А. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный технический университет". – № 2018142650 ; заявл. 03.12.2018. ; опубл. 06.11.2019, Бюл. № 31. – 7 с. ил.

279. **Патент РФ 2708860**, МПК В01J 20/30, В01J 20/24, СПК В01J 20/3028, В01J 20/24. Способ получения сорбционных материалов [Текст] / Политаева Н. А., Смятская Ю. А., Долбня И. В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого". – № 2019117868 ; заявл. 07.06.2019. ; опубл. 11.12.2019, Бюл. № 35. – 6 с.

280. **Патент РФ 2710174**, МПК С02F 11/00, С02F 1/40, С02F 101/32, С08J 11/00, СПК С02F 11/00, С02F 1/40, С02F2101/32, С08J 11/00. Способ утилизации нефтешламов [Текст] / Садриев А. Ф. ; заявитель и патентообладатель Публичное акционерное общество «Татнефть» имени В.Д. Шашина. – № 2019105867 ; заявл. 01.03.2019. ; опубл. 24.12.2019, Бюл. № 36. – 10 с. ил.

281. **Патент РФ 2711162**, МПК Е01В 27/06, В08В 3/08, СПК Е01В 27/06, В08В 3/08. Способ очистки отходов щебневого балласта, применяемого на железной дороге [Текст] / Некрасова В. Н., Щемелинина Т. Н., Е. М. Анчугова Е. М. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС". – № 2019102645 ; заявл. 30.01.2019. ; опубл. 15.01.2020, Бюл. № 2. – 10 с.

282. **Патент РФ 2718815**, МПК В09С 1/08, СПК В09С 1/08. Способ получения композиции торфо-диатомитового мелиоранта для рекультивации земель, загрязненных нефтью и нефтепродуктами [Текст] / Усманов А. И., Горбунов А. В. ; заявитель и патентообладатель ООО "ЭкоИнноватор" – № 2019118227, ; заявл. 12.06.2019. ; опубл. 14.04.2020, Бюл. № 11. – 6 с.

283. **Патент РФ 2724456**, МПК В09С 1/08, СПК В09С 1/08. Способ изолирования нефти в почве химическим капсулированием [Текст] / Пашаян А. А., Плотников А. С., Щетинская О. С., Аминов Д. О. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Передовые Технологии». – № 2020103938 ; заявл. 29.01.2020. ; опубл. 23.06. 2020, Бюл. № 18. – 6 с.

284. **Патент РФ 2724886**, МПК С10L 1/02, С07С 67/03, С11С 3/10, С11С 3/04, СПК С10L 1/02, С07С 67/03, С11С 3/10, С11С 3/04. Способ управления непрерывным процессом переэтерификации рапсового масла сверхкритическим этиловым спиртом [Текст] / Шевцов А. А., Тертычная Т. Н., Ткач В. В., Сердюкова Н. А. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования "Военный учебно-научный центр Военно-воздушных сил "Военно-воздушная академия

имени профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина" – № 2019127099 ; заявл. 27.08.2019. ; опубл. 26.06.20, Бюл. № 18. – 12 с. ил.

285. **Патент РФ 2732242**, МПК C10G 7/04, C10G 33/00, СПК C10G 7/04, C10G 33/00. Способ получения мазута из пропарочно-промывочных смесей нефтепродуктов [Текст] / Джангулян Э. С. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Саратовский Торговый Дом". – № 2013125542/10 ; заявл. 24.03.2020. ; опубл. 14.09.2020, Бюл. № 26. – 10 с. ил.

286. **Патент РФ 2737728**, МПК B01J 20/10, B01J 20/30, СПК B01J 20/10, B01J 20/30. Состав сорбента и способ его получения [Текст] / Казьмина О. В., Семенова В. И., Скирдин К. В. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет». – № 2020118279 ; заявл. 03.06.2020. ; опубл. 02.12.2020, Бюл. № 34. – 7 с.

287. **Патент РФ 2786497**, МПК B09C 1/10, СПК B09C 1/10. Биопрепарат для очистки объектов окружающей среды от загрязнений нефтью и нефтепродуктами [Текст] / Саксон В. М., Бойкова И. В., Новикова И. И., Сологуб А. В. ; заявитель и патентообладатель Саксон Валерий Михайлович – № 2022107044 ; заявл. 17.03.2022. ; опубл. 21.12.2022, Бюл. № 36. – 16 с.

288. **Патент РФ 542932**, МПК G01N 1/38, G01N 1/28, G01N 1/44, G01N 33/48. Способ приготовления проб липидов [Текст] / Синяк К. М., Даниленко И.И., Васюренко З. П., Крук В. И. ; заявитель и патентообладатель Киевский научно-исследовательский институт эпидемиологии, микробиологии и паразитологии – № 2138675/13 ; заявл. 26.07.1975. ; опубл. 15.01.1977, Бюл. № 2. – 2 с.

289. Патин, С. А. Нефть и экология континентального шельфа / С. А. Патин // Морской нефтегазовый комплекс: состояние, перспективы, факторы воздействия. – М.: Изд-во ВНИРО, 2017. – 326 с.

290. Перевалова, О. А. Перестройка видовой структуры почвенных альгоценозов в ответ на локальное загрязнение бензином / О. А. Перевалова, М. И.

Смирнова // Молодая нефть: Мат. Всеросс. молодежной науч.-техн. конф. нефтегазовой отрасли. – Красноярск: СФУ, 2016. – С. 287–290.

291. Петриков, К. В. Характеристика продуцентов биоПАВ, выделенных из поверхностных вод и седиментов Балтийского моря / К. В. Петриков, А. А. Ветрова, А. А. Иванова, Я. А. Делеган, А. Б. Гафаров, С. Л. Соколов // Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов: Мат. 4-й Пущинской конф. – М.: ИД «Вода: химия и экология», 2017. – С. 84–86.

292. Петровский, Э. А. Современные технологии переработки нефтешламов / Э. А. Петровский, Е. А. Соловьёв, О. А. Коленчуков // Вестник БГТУ им. В. Г. Шухова. – 2018. – №4. – С.124–132.

293. Петухова, Г. А. Эколого-генетические последствия воздействия нефтяного загрязнения на организмы: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.16 / Петухова Галина Александровна. – Тюмень, 2007. – 30 с.

294. Пименов, А. А. Управление отходами и остатками предприятий химии и нефтехимии с использованием их ресурсного потенциала: дисс. ... д-ра техн. наук : 03.02.08 / Пименов Андрей Александрович. – Уфа: ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет», 2018. – 263 с.

295. Пирог, Т. П. Влияние микробных ПАВ *Nocardia vaccini* IMB В-7405 на деструкцию нефти в воде / Т. П. Пирог, Е. В. Панасюк, Н. А. Антонюк // Химия и технология воды. – 2016а. – Т. 38, № 5 (253). – С. 542–552.

296. Пирог, Т. П. Синтез фитогормонов бактериями *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, *Rhodococcus erythropolis* Имв Ас-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB В-7405 – продуцентами поверхностно-активных веществ / Т. П. Пирог, Н. О. Леонова, Т. А. Шевчук, И. В. Савенко, Г. А. Иутинская // Вестник НАН Белоруссии. Биол. науки. – 2016б. – № 1. – С. 90–95.

297. Плешакова, Е. В. Особенности деградации углеводов бактериями, выделенными из буровых шламов / Е. В. Плешакова, А. Ю. Беляков, Д. В. Деев // Поволжский экологический журнал. – 2017. – № 2. – С. 170–182.

298. Плотников, Е. В. Сравнительное изучение свойств модифицированных минералов глауконита и цеолита при очистке воды от

микробиологических загрязнений / Е. В. Плотников, Д. В. Мартемьянов, И. В. Мартемьянова, Т. И. Солодкова, О. А. Воронова, В. А. Кутугин, Е. В. Дорожко, Е. И. Короткова, А. А. Артамонов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – №1. – С. 106–108.

299. Полникова, Т. И. Особенности технологии первичных углеродных сорбентов экологического назначения на основе лигнина / Т. И. Полникова, К. Б. Хоанг // Тонкие химические технологии. – 2014. – Т. 9, № 5. – С. 94–95.

300. Поляк, Ю. М. Мониторинг Финского залива Балтийского моря: влияние антропогенных факторов на биогеохимические процессы в прибрежной зоне / Ю. М. Поляк, Ю. И. Губелит, Т. Д. Шигаева, Л. Г. Бакина, В. А. Кудрявцева, Г. Дембска, Г. Пазиковска-Сапота // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. – 2018. – Т. 29, № 2. – С. 99–117.

301. Поляк, Ю. М. Почвенные ферменты и загрязнение почв: биодegradация, биоремедиация, биоиндикация / Ю. М. Поляк, В. И. Сухаревич // Агрохимия. – 2020. – № 3. – С. 83–93.

302. Полякова, Ю. А. Влияние нефтезагрязнения на сообщества раковинных амёб в светло-серой лесной почве Томского района / Ю. А. Полякова, К. Ф. Залялетдинова, Т. В. Денисова // Научно-исследовательские публикации. – 2015. – Т. 1, № 3 (23). – С. 27–30.

303. Понаморева, О. Н. Сравнительный анализ способности синтетических поверхностно-активных веществ и гликолипидного биосурфактанта солубилизировать *n*-гексадекан / О. Н. Понаморева, И. А. Нечаева, А. А. Епихина, Т. М. Лыонг, В. А. Алферов // Актуальная биотехнология. – 2018. – № 3 (26). – С. 247–249.

304. Популов, Д. А. Экология на железнодорожном транспорте / Д. А. Популов // Студенческий научный форум – 2020 : мат. XII Междунар. студ. науч. конф. – Режим доступа: <https://files.scienceforum.ru/pdf/2020/5dd535dca58f9.pdf>

305. Практикум по микробиологии / Под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Академия, 2005. – 608с.

306. Привалова, Н. М. Исследование методов очистки вод от загрязнений нефтью и нефтепродуктами / Н. М. Привалова, М. В. Двадненко, А. А. Некрасова, О. С. Попова, Д. М. Привалов // Научный журнал КубГАУ. – 2015. – № 113 (09). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2015/09/pdf/25.pdf>
307. Просянныхков, Е. В. Влияние загрязнения нефтью на почвы Юго-Запада Нечерноземной зоны / Е. В. Просянныхков, Е. В. Смольский, А. С. Гуца // Агрохимия. – 2012. – № 7. – С. 74–86.
308. Пуговкин, Д. В. Эпифитные бактериоценозы *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря и их роль в деградации нефтяных загрязнений: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 25.00.28 / Пуговкин Дмитрий Витальевич. – Мурманск, 2017. – 27 с.
309. Путевые машины: учебно-методическое пособие для лабораторных и практических работ / Д. В. Глазунов. – Ростов н/Д.: ФГБОУ ВО РГУПС, 2017. – 24 с.
310. Рафикова, Г. Ф. Сравнительная характеристика микобиот почв разных типов при загрязнении нефтью и биорекультивации : автореф. канд. биол, наук : 03.00.16 / Рафикова Гульназ Фаилевна. – Уфа, 2009. – 23 с.
311. Рекомендации по применению технических средств при ликвидации последствий разлива нефтепродуктов. – М.: ФГБУ ВНИИ ГОЧС (ФЦ), 2020.
312. Ровинский, М. Я. Фоновый мониторинг полициклических ароматических углеводородов / М. Я. Ровинский, Т. А. Теплицкая, Т. А. Алексеева. – Л.: Гидрометеиздат, 1988. – 224 с.
313. Роговская, П. И. Рекомендации по методам производства анализов на сооружениях биохимической очистки промышленных сточных вод / П. И. Роговская, Ф. Е. Оргианская. – М.: Стройиздат, 1970. – 104 с.
314. Рогозина, Е. А. Сравнительная характеристика отечественных биопрепаратов, предлагаемых для очистки почв и грунтов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами / Е. А. Рогозина, О. А. Андреева, С. И. Жаркова, Д. А. Мартынова // Нефтегазовая геология. Теория и практика. – 2010. – Т.5, № 3. – С. 1–18.

315. Руденко, Е. Ю. Биоремедиация нефтезагрязненных почв органическими компонентами отходов пищевой (пивоваренной) промышленности : дис. докт. биол. Наук : 03.02.08 / Руденко Елена Юрьевна. – Самара, 2015. – 352с.

316. Руководство по обеспечению качества питьевой воды // Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2004. – Том 1 : 3-е изд. – 121 с.

317. Рыбин, А. В. Опыт рекультивации разлива нефти в условиях юга Западной Сибири / А. В. Рыбин, И. Н. Шумилов, С. Н. Гашев, А. П. Казанцев, М. Н. Казанцева, А. В. Соромотин // Биологическая рекультивация нарушенных земель: Тез. докл. междунар. совещ. – Екатеринбург: УрО РАН, 1996. – С. 127–128.

318. Рыкова, А. И. Влияние нефтепродуктов на активность ферментов почвы / А. И. Рыкова, Е. А. Толстых, К. А. Харина // Вестник КГУ. – 2012. – №3. – С. 98–101.

319. Рябцева, Н. Д. Изучение каталитических процессов микробного окисления нефтяных углеводородов / Н. Д. Рябцева, В. С. Никитина, М. И. Абдуллин, Р. Ф. Багаутдинов, А. А. Кадиров // Вестник Башкирского университета. – 2016. – Т.21. – №2. – С. 308–313.

320. Сакаева, Э. Х. Оценка биологической активности техногрунтов на основе буровых шламов для рекультивации нарушенных земель / Э. Х. Сакаева, Л. В. Рудакова // Теоретическая и прикладная экология. – 2020.– №4. – С.192-197.
<https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-4-192-197>

321. СанПиН 1.2.3684-21. Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий : [утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача РФ 28 янв. 2021 г.] – М.: Изд-во стандартов, 2021.

322. Семенов, А. М. Микроорганизмы на поверхности морских макрофитов в северных морях России и их возможное практическое использование / А. М. Семенов, В. Н. Федоренко, Е. В. Семенова // Биосфера. – 2014. – Т. 6, №1. – С. 60–76.

323. Семенов, Ю. В. Использование микроводоросли – хлореллы для биологической очистки воды от загрязнений нефтепродуктами / Ю. В. Семенов, Т. А. Харламова, А. В. Бодров // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). – 2012. – № 11. – С. 169–171.

324. Сенаторова, О. Как фермер из Иркутской области жмет масло из рыжика / О. Сенаторова // Ведомости. – 2017. – 31 марта. – <https://www.vedomosti.ru/management/articles/2017/03/31/683536-fermer-maslo-rizhika>

325. Сергеева, Я. Э. Расчет характеристик биодизельного топлива на основе жирнокислотного состава липидов некоторых биотехнологически значимых микроорганизмов / Я. Э. Сергеева, Е. Б. Мостова, К. В. Горин, А. В. Комова, И. А. Конова, В. М. Пожидаев, П. М. Готовцев, Р. Г. Василев, С. П. Синеокий // Биотехнология. – 2017. – Т. 33, № 1. – С. 53–61.

326. Серебренникова, М. К. Биологические способы очистки нефтезагрязненных сточных вод (обзор) / М. К. Серебренникова, М. С. Тудвасева, М. С. Куюкина // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2015. – №1. – С. 15–30.

327. Середина, В. П. Особенности влияния нефтяного загрязнения на почвы средней тайги Западной Сибири / В. П. Середина, Е. В. Колесникова, В. А. Кондыков, А. И. Непотребный, С. А. Огнев // Нефтяное хозяйство. – 2017. – № 5. – С. 108–112.

328. Симонов, Ю.Г. Избранные труды / Ю.Г. Симонов. – М.: Ритм, 2008. – 384 с.

329. Смирнова, Т. С. Влияние нефтегазовой промышленности на состояние окружающей среды и здоровье человека / Т. С. Смирнова, О. В. Кузнецова // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2014. – № 9. – С. 39–43.

330. Смирнова, Т. С. Мониторинг углеводородного загрязнения почвы посредством анализа её ферментативной активности / Т. С. Смирнова, Ю. Ю. Панина // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. – № 12. – С. 33–38.
331. Созина, И. Д. Микробиологическая ремедиация нефтезагрязненных почв / И. Д. Созина, А. С. Данилов // Записки Горного института. – 2023. – С. 1–16. <https://doi.org/10.31897/PMI.2023.8>
332. Соколов, Л. И. Переработка и утилизация нефтесодержащих отходов / Л. И. Соколов. – М.: Инфра-Инженерия, 2017. – 160 с.
333. Соколова, Д. Ш. Образование поверхностно-активных веществ аэробными органотрофными бактериями нефтяных пластов: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Соколова Дияна Шамилевна. – Москва, 2013. – 134 с.
334. Солнцева, Н. П. Нефть в почвах тундровых ландшафтах России. Уровни накопления. Закономерность миграции / Н. П. Солнцева // Криопедология-97: Тез. докл. межд. конф. – Сыктывкар, 1997. – С. 181.
335. Сорбент «Ньюсорб» [Электронный ресурс]: официальный сайт ООО «ЛАРН-32». – Режим доступа: <https://larn32.ru/catalog/detail6.htm>
336. Сорбент «Униполимер-М» [Электронный ресурс]: официальный сайт НПФ «Экосорб». – Режим доступа: <http://www.ecosorb.ru/сорбент-«униполимер-м».html>
337. Сорбент «Унисорб» [Электронный ресурс]: официальный сайт НПФ «Экосорб», 2013. – Режим доступа: <http://www.unisorb.ru/сорбент-«унисорб».html>
338. Стенина, Т. А. Микробиологическая характеристика некоторых почв Коми АССР / Т. А. Стенина // Труды Коми филиала АН СССР. – 1964. – Вып.6. – 120 с.
339. Сулименко, Л. П. Практические аспекты использования сорбентов для санации локальных нефтезагрязненных северных территорий / Л. П. Сулименко, Л. Б. Кошкина, В. А. Маслобоев // Вестник Кольского науч. центра РАН. – 2017. – № 1. – С. 116–123.

340. Тангиева, Д. Б. Применение терморасширенного графита при ликвидации разливов нефти / Д. Б. Тангиева, Б. А. Темирханов, З. Х. Султыгова, Р. Д. Арчакова // Химия и химическое образование. XXI век : Мат. Всерос. науч. конф. – Владикавказ: Северо-Осетинский государственный университет им. К. Л. Хетагурова, 2014. – С. 207–210.

341. Тарабукина, Н. П. Экологическая оценка и биоремедиация нефтезагрязненных мерзлотных почв Якутии : монография / Н. П. Тарабукина, Д. Д. Саввинов, М. М. Неустроев, А. М. Степанова, М. П. Неустроев, Н. Н. Сазонов, С. И. Парникова. – Новосибирск: Изд. АНС «СибАК», 2017. – 136 с.

342. Технический информационный документ «Последствия загрязнения нефтью для окружающей среды». – ИТОПФ, 2011. – № 13. – Режим доступа: http://www.itopf.com/uploads/translated/TIP_13_2011_RU_Effects_of_oil_pollution_in_the_environment.PDF

343. Тимергазина, И. Ф. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами / И. Ф. Тимергазина, Л. С. Переходова // Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2012. – Т.7, №.1. – Режим доступа: http://www.ngtp.ru/rub/7/16_2012.pdf

344. Титова, В. И. Методы оценки функционирования микробоценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества: научно-методическое пособие / В. И. Титова, А. В. Козлов. – Нижний Новгород: Нижегородская гос. с.-х. акад., Каф. агрохимии и агроэкологии, 2012. – 64 с.

345. Тихонова, Т. В. Оценка ущерба, причинённого ресурсам традиционного природопользования приарктических территорий Республики Коми / Т. В. Тихонова // Европейская зона российской Арктики: сценарии развития : Мат. Всерос. науч. конф. – Сыктывкар: Коми республиканская академия государственной службы и управления, 2017. – С. 65–70.

346. Тихонова, Т. В. Устойчивость природной среды Печоро-Уральской Арктики / Т. В. Тихонова // Арктика: экология и экономика. – 2012. – №4 (8). – С. 16–25.

347. Трифонова, Т. А. Сравнительная оценка состояния городских почв по их биологической активности / Т. А. Трифонова, О. Н. Сахно, О. Н. Забелина, И. Д. Феоктистова // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение. – 2014. – № 3. – С. 23–27.

348. Туманян, А. Ф. Влияние нефтяного загрязнения на микробиологические процессы в почвах / А. Ф. Туманян, Е. К. Батовская, Н. В. Тютюма // Химия и технология топлив и масел. – 2013. – № 2. – С. 53–56.

349. Умербаева, Р. И. Содержание углеводов в органах и тканях рыб, обитающих на лицензионном участке ООО «Каспийская нефтяная компания» / Р. И. Умербаева, Н. В. Попова // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2014. – № 12. – С. 55-58.

350. Универсальный Сорбонафт ВД [Электронный ресурс]: официальный сайт ЗАО «ЦЭИ Пресс-Торф». – Режим доступа: <https://center-ecology.ru/sorbenty/universalnyj-sorbonaft-vd>

351. Федасов, Д. С. Повышение надежности гидропривода вырезающего устройства щебнеочистительных машин: дис. ... канд. техн. наук: 05.02.02 / Федасов Дмитрий Сергеевич – М., 2021. – 170 с.

352. Федоренко, В. Н. Активность штаммов *Cobetia marina* S2 и *Nocardia coeliaca* S1 в отношении углеводов нефти и прогнозирование их выживаемости после лиофилизации / В. Н. Федоренко, М. К. Князюк, А. И. Нетрусов, А. И. Шестаков // Биотехнология. – 2016. – № 4. – С. 9–20.

353. Федоренко, В. Н. Выделение и оценка биотехнологического потенциала микроорганизмов для утилизации нефтяных загрязнений северных морей: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03, 03.01.06 / Федоренко Виктория Николаевна. – Москва, 2016. – 28 с.

354. Федотова, А. С. Технологические аспекты очистки и рекультивации почв агробиоценозов при нефтерозливах / А. С. Федотова, В. М. Мелкозеров // Вестник КрасГАУ. – 2017. – № 1. – С. 85-91.

355. Фёршт, Э. Структура и механизм действия ферментов / Э. Фёршт. – Изд-во «Мир», 1980. – 432 с.

356. Филатов, Д. А. Микробное окисление высоковязкой нефти и ее высокомолекулярных гетероорганических соединений в почве / Д. А. Филатов, Е. Б. Кривцов, Н. Н. Свириденко, А. К. Головкин, Л. К. Алтунина // Биотехнология. – 2014. – № 4. – С. 74–82.

357. Филонов, А. Е. Биодegradация нефти психротрофными микроорганизмами-деструкторами и её адсорбция растительным сорбентом в жидкой минеральной среде / А. Е. Филонов, И. А. Нечаева, А. Б. Гафаров, М. У. Аринбасаров, И. Ф. Пунтус, С. Суни, М. Романчук, А. М. Боронин // Биотехнология. – 2007а. – № 2. – С. 31–39.

358. Филонов, А. Е. Биотехнологии и биопрепараты для очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений в условиях умеренного и холодного климата / А. Е. Филонов, И. Ф. Пунтус, Л. И. Ахметов, А. А. Ветрова, С. В. Линников, А. М. Боронин // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Мат. Междунар. форума. – М., 2020. – С. 328–330.

359. Филонов, А. Е. Влияние лигнина на эффективность очистки почвы от углеводородов нефти с использованием биопрепарата «Микробак» / А. Е. Филонов, И. Ф. Пунтус, Л. И. Ахметов, А. А. Ветрова, Т. В. Фунтикова, В. А. Почуев, Р. С. Алехин // Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов : Матер. V Пущинской конф. – Москва: ООО «ИД «Вода: химия и экология», 2018. – С.159–161.

360. Филонов, А. Е. Микробные биопрепараты для очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений в условиях умеренного и холодного климата: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.01.06 / Филонов Андрей Евгеньевич. – Пущино, 2016. – 46 с.

361. ФККО. Федеральный квалификационный каталог отходов. – 2017. – Режим доступа: <https://classinform.ru/fkko-2017.html>

362. Фокина, Н. В. Использование минеральных сорбентов для очистки природных сред от нефтепродуктов в Кольском северном регионе / Н. В. Фокина, В. А. Миазин // Инженерия и науки о Земле: прикладные и фундаментальные

исследования: Мат. Междунар. симпоз., посвященный 85-летию Х.И. Ибрагимова (ISEES 2019). – Atlantis Press, 2019. – С. 89-93.

363. Фомина, Н. В. Анализ изменения целлюлозоразрушающей способности антропогенно загрязненной почвы / Н. В. Фомина // Вестник КрасГАУ. – 2014. – №7. – С 101–107.

364. Фомина, Н. В. Ферментативная активность нефтезагрязненного почвогрунта после применения биоактивного сорбента / Н. В. Фомина // Эпоха науки. – 2016. – № 7. – С. 78–96.

365. Франк, Ю. А. Повышение эффективности ремедиации нефтезагрязненных почв в природно-климатических условиях Севера Томской области и сопредельных регионов с применением аборигенных микроорганизмов / Ю. А. Франк, К. Л. Никитчук, А. А. Сапега, Е. А. Лукьянова, Д. А. Ивасенко, А. В. Косов, А. Л. Герасимчук, Н. С. Евсеева // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. – 2020. – Т. 331, № 9. – С. 130–139.
<https://doi.org/10.18799/24131830/2020/9/2815>

366. Хабибуллина, Ф. М. Изменение видового разнообразия почвенных микромицетов в тундровой зоне под влиянием выпаса оленей / Ф. М. Хабибуллина, Е. Г. Кузнецова // Вестник Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. – 2009. – № 12. – С. 16–19.

367. Хазиев, Ф. Х. Методы почвенной энзимологии / Ф. Х. Хазиев ; отв. ред. Г. С. Куликов. – Москва : Наука, 2005. – 252 с.

368. Хазиев, Ф. Х. Роль ферментативной активности в биохимическом гомеостазе в почве/ Ф. Х. Хазиев // Экобиотех. – 2019. – Т. 2, № 3. –С. 230–233.

369. Хазиев, Ф. Х. Экологические связи ферментативной активности почв / Ф. Х. Хазиев // Экобиотех. – 2018. – Т. 1, № 2. – С. 80–92.

370. Хазиев, Ф. Х. Экология почв Башкортостана / Ф. Х. Хазиев. – Уфа: АН РБ, Гилем, 2012. – 312 с.

371. Хачатрян, О. М. Способы и методы борьбы с загрязнением компонентов окружающей среды нефтью и нефтепродуктами / О. М. Хачатрян // Точная наука. – 2020. – № 82. – С. 8–10.

372. Херрера-Альварado, Л. А. Разработка комплексной технологии обезвреживания нефтешламов на территории месторождения AUSA – EP PETROECUADOR в Эквадоре: дис. ... канд. техн. наук: 03.02.08 / Херрера-Альварado Луис Андрес. – Москва, 2015. – 100 с.

373. Химия в экологии: учебное пособие / Н. А. Улахович. – Казань: Казанский (Приволжский) федеральный университет, 2013. – 58 с.

374. Цивадзе, А. Ю. Переработка резервуарного нефтешлама методом гидротермического диспергирования с помощью поликомплексонов и солей аминокислот / А. Ю. Цивадзе, А. Л. Максимов, А. Я. Фридман, Б. П. Туманян, А. К. Новиков, А. М. Горбунов, М. П. Шабанов, Н. С. Кучинская, Е. С. Бурыхина // Химия и технология топлив и масел. – 2020. – № 2 (618). – С. 48–51.

375. Цомбуева, Б. В. Метод очистки почвы от нефтяного загрязнения с помощью природных сорбентов / Б. В. Цомбуева, З. В. Горяшкиева, Л. Ф. Щербакова // Вестник ВолГУ. Серия 11. Естеств. науки. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 19–26.

376. Цыганова, С. И. Синтез магнитных нефтесобирателей на основе модифицированных опилок древесины / С. И. Цыганова, Е. В. Веприкова, Е. А. Терещенко, О. Ю. Фетисова // Экология и промышленность России. – 2014. – № 6. – С. 18–21.

377. Чалов, К. В. Каталитический пиролиз нефтешламов: автореф. дис. ... канд. хим. наук: 05.17.04 / Чалов Кирилл Вячеславович. – М., 2013. – 18 с.

378. Чалова, М. Ю. Совершенствование метода расчета параметров скребково-цепного исполнительного устройства щебнеочистительных машин : дис. ... канд.техн.наук: 05.02.02 / Чалова Маргарита Юрьевна. – М., 2015. – 111 с.

379. Чачина, С. Б. Эффективность комплексного применения вермикультуры и биопрепаратов «Байкал», «Восток», «Тамир» для очистки почв от мазута / С. Б. Чачина, Е. П. Чачина // Бюллетень науки и практики. – 2018. – Т. 4, № 10. – С. 133–139. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/chachina>

380. Черкасов, Е. В. Получение устойчивых водотопливных эмульсий на основе нефтешламов с использованием виброкавитационной технологии / Е. В.

Черкасов, Ю. А. Пименов, А. С. Мазур, Н. Л. Ефимова, В. Б. Улыбин, Т. В. Украинцева // Известия СПбГТИ. – 2013. – №18. – Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_19045379_60201699.pdf

381. Чугунова, М. В. Особенности процессов естественной биодegradации нефти в основных типах почв северо-запада Российской Федерации / М. В. Чугунова, Л. Г. Бакина, Л. П. Капелькина, А. О. Герасимов // Биотехнология – от науки к практике: Мат. Всеросс. конф. В 2 т. Т. 1. – Уфа: Башкирский ГУ, 2014. – С. 57–61.

382. Шавшукова, С. Ю. Технологии с применением энергии микроволнового излучения / С. Ю. Шавшукова, Е. А. Удалова // Альтернативные источники сырья и топлива «АИСТ-2017»: тез. VI Междунар. Науч. Технич. конф. – Минск: Институт химии новых материалов НАН Беларуси, 2017. – С. 46.

383. Шамраев, А. В. Влияние биопрепарата «Ленойл» на активность каталазы нефтезагрязненных почв / А. В. Шамраев, О. Н. Гончарова // Вестник ОГУ. – 2011. – №12 (131). – С. 447–449.

384. Шамрикова, Е. В. Соединения азота в почвах континентальных окраин европейского сектора Российской Арктики / Е. В. Шамрикова, С. В. Денева, О. С. Кубик, А. Н. Панюков // Почвоведение. – 2020. – № 7. – С. 803–815.

385. Шарифуллин, В. Н. Расчет функции синергизма при использовании композиционных ингибиторов / В. Н. Шарифуллин, А. В. Шарифуллин, А. Т. Сулейманов, Л. Р. Айбекова // Вестник Казанского технологического университета. – 2007. – № 1. – С. 93-101.

386. Шаркова, С. Ю. Изменение химических характеристик почвы под действием нефтезагрязнения / С. Ю. Шаркова // Известия Пензенского государственного педагогического университета им. В. Г. Белинского. – 2011. – № 25. – С. 610–613.

387. Шашурин, М. М. Ферментативная активность почв и почвогрунтов при хроническом воздействии экотоксикантов различной природы в условиях Центральной и Южной Якутии / М. М. Шашурин // Наука и образование. – 2012. – №1. – С.76–81.

388. Шпербер, Е. Р. Донные отложения мазутных резервуаров в качестве компонента битума для асфальтобетонных покрытий дорог / Е. Р. Шпербер, Т. Н. Боковикова, Д. Р. Шпербер // Нефтепереработка и нефтехимия. – 2013. – №7. – С. 18–22.

389. Шпербер, Е. Р. Использование нефтешлама в получении котельного топлива / Е. Р. Шпербер, Т. Н. Боковикова, И. Р. Дун, Д. Р. Шпербер // Повышение эффективности разработки нефтяных и газовых месторождений на поздней стадии: тез. докл. Междунар. науч. практ. конф. – Краснодар: ООО «Издательский Дом – Юг», 2017. – С. 113.

390. Шрам, В. Г. Технология переработки нефтешлама / В. Г. Шрам, О. Н. Петров, А. Н. Сокольников, П. Э. Иванов, Д. В. Агровиченко // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2018. – Т. 8, № 3. – С.121–125.

391. Щемелинина, Т. Н. Биологическая активность нефтезагрязненных почв Крайнего севера на разных стадиях их восстановления и при рекультивации (на примере Усинского района Республики Коми): дис. ... канд. биол. наук: / 03.00.27 / Щемелинина Татьяна Николаевна. – Сыктывкар, 2008. – 162 с.

392. Щемелинина, Т. Н. Биопрепарат «Универсал» и микроводоросли в условиях углеводородного загрязнения / Т. Н. Щемелинина, М. Ю. Маркарова, Н. В. Злобина, Ж. Л. Пантюхина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова. – 2014. – Т.10, № 2. – С. 18–22.

393. Щемелинина, Т. Н. Диагностирование степени загрязненности почв нефтью по показателям ферментативной активности / Т. Н. Щемелинина, Е. И. Новоселова, Н. А. Киреева, М. Ю. Маркарова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2007. – № 75. – С. 432–434.

394. Щемелинина, Т. Н. Липазная активность в качестве диагностического критерия оценки нефтезагрязнений почв / Т. Н. Щемелинина // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. – 2011. – № 10–11. – С. 40–41.

395. Щемелинина, Т. Н. Моделирование технологии «контурного заводнения» в микрокосмах / Т. Н. Щемелинина, Е. М. Анчугова, Е. М. Лаптева,

Р. С. Василевич, М. Ю. Маркарова, Е. Н. Глазачева, М. В. Успенская // Почвоведение. – 2020. – № 2. – С. 219–229.

396. Щемелинина, Т. Н. Новые тренды в механизмах повышения производительности материалов на минеральной основе / Т. Н. Щемелинина, О. Б. Котова, М. Хария, Е. М. Анчугова, И. Пеловский, И. Кретеску // Вестник ИГ Коми НЦ УрО РАН. – 2017. – № 6. – С.40-42.

397. Щемелинина, Т. Н. Применение инновационного биосорбента на основе отходов лесопромышленного производства для очистки нефтезагрязненных вод / Т. Н. Щемелинина, Ж. Л. Пантюхина, Д. В. Тарабукин, Е. М. Анчугова, В. В. Володин // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова. – 2018а. – Т.14, № 3. – С. 19–24.

398. Щемелинина, Т. Н. Цеолитовое и глинистое сырье: экспериментальное моделирование биогеосорбентов / Т. Н. Щемелинина, О. Б. Котова, Е. М. Анчугова, Д. А. Шушков, Г. В. Игнатъев // Вестник ИГ Коми НЦ УрО РАН. – 2018б. – № 9. – С. 50–57.

399. Экология на железнодорожном транспорте : учебное пособие для студентов специальностей «Строительство железных дорог, путь и путевое хозяйство», «Электроснабжение (по отраслям)», «Техническая эксплуатация подвижного состава железных дорог» / Н. В. Розум, С. Ю. Трофименко. – Волгоград: ВТЖТ – филиал ФГБОУ ВО РГУПС, 2019. – 47 с.

400. Эсенжанова, Г. К. Изменение некоторых показателей почв и грунтов города Балыкчы, загрязненных нефтепродуктами после ремедиации / Г. К. Эсенжанова, Н. Э. Тотубаева, Ж. К. Токпаева, Г. Т. Талайбекова, К. А. Кожобаев // Проблемы региональной экологии. – 2019. – № 2. – С. 38–42.

401. Юдин, Ю. П. Геоботаническое районирование / Ю. П. Юдин // Производительные силы Коми АССР // – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1954. – Т. III, Ч. 1. – С. 323-369.

402. Юшков, М. «Дочка» ЛУКОЙЛа оценила масштаб разлива нефтепродуктов в Коми / М. Юшков, Л. Подобедова // РБК. – 2021. – 16 мая. – Режим доступа: <https://www.rbc.ru/society/16/05/2021/60a077479a79476dd13a911c>

403. Янтурина, И. А. Бактерии-нефтедеструкторы рода *Pseudomonas* – потенциальные продуценты биосурфактантов / И. А. Янтурина, Р. Н. Шахмаев // Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии: Мат. XIII Всеросс. науч. интернет-конф. – 2019. – С. 220.

404. Abbasi Maedeh, P. Evaluation of oil pollution dispersion in an unsaturated sandy soil environment / P. Abbasi Maedeh, T. Nasrabadi, W. Wu, M. Al Dianty // Pollution. – 2017. – V. 3, No. 4. – P. 701–711.
<https://doi.org/10.22059/POLL.2017.62784>

405. Abdallah, M. Artificial intelligence applications in solid waste management: A systematic research review / M. Abdallah, M. Abu Talib, S. Feroz, Q. Nasir, H. Abdalla, B. Mahfood // Waste Management. – 2020. – V. 109. – P. 231–246.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.04.057>

406. Abdulyekeen, K. A. D-optimal design application to study enhanced biostimulation of used motor oil contaminated soil / K. A. Abdulyekeen, A. A. Ibrahim, A. Aliyu, A. Salis, M. D. Magaji, L. Oluwafunsho Ijaola // Path of Science. – 2019. – V. 5, No. 5. <https://doi.org/10.22178/pos.46-5. P. 1001-1008>

407. Abena, M. T. B. Microbial diversity changes and enrichment of potential petroleum hydrocarbon degraders in crude oil-, diesel-, and gasoline-contaminated soil / M. T. B. Abena, G. Chen, Z. Chen, X. Zheng, S. Li, T. Li, W. Zhong // 3 Biotech. – 2020. – V. 10, No. 42. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-2027-7>

408. Abuhazel, K. Oily wastewater treatment: overview of conventional and modern methods, challenges, and future opportunities // K. Abuhazel, M. Kchaou, M. Alquraish, Y. Munusamy, Y. T. Jeng // Water. – 2021. – V. 13, No. 7. – 980.
<https://doi.org/10.3390/w13070980>

409. Achuba, F. I. Effect of petroleum products on soil catalase and dehydrogenase activities / F. I. Achuba, P. N. Okoh // Open Journal of Soil Science. – 2014. – V. 4. – No. 12. – P. 399. <https://doi.org/10.4236/ojss.2014.412040>

410. Adedeji, J. A microbial bioremediation and biodegradation of petroleum products – A mini review / J. A. Adedeji, E. K. Tetteh, M. Opoku Amankwa, D. Asante-Sackey, S. Ofori-Frimpong, E. K. Armah, S. Rathilal, A. H. Mohammadi, M.

Chetty // Applied Science. – 2022. – V. 12. – 12212.
<https://doi.org/10.3390/app122312212>

411. Adetunji, A.I. Production and characterization of bioemulsifiers from *Acinetobacter* strains isolated from lipid-rich wastewater / A.I. Adetunji, A.O. Olaniran // 3 Biotech. – 2019. – V. 9, No. 4. – 151. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1683-y>

412. Adetunji, C. O. Isolation, screening, and characterization of biosurfactant-producing microorganism that can biodegrade heavily polluted soil using molecular techniques / C. O. Adetunji, A. Inobeme, O. A. Anani, J. Jeevanandam, M. B. Yerima, D. Thangadurai, S. Islam, O. M. Oyawoye, J. K. Oloke, O. T. Olaniyan // Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science. Biosurfactants for the Bioremediation of Polluted Environments / Ed. by I. Adetunji, C. O. Adetunji. – Oxford, United Kingdom: Elsevier Inc., 2021. – P. 53–68. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822696-4.00016-4>

413. Agu, K. C. Isolation and characterization of microorganisms from oil polluted soil in Kwata, Awka South, Nigeria / K. C. Agu, B. E. Edet, I. C. Ada, A. N. Sunday, O. B. Chidi, A. C. Gladys, E. C. Uche, O. M. Uchenna, O. A. Chinedu // American Journal of Current Microbiology. – 2014. – V. 3. – P. 46–59.

414. Aitkeldiyeva, S. A. Degradation of petroleum hydrocarbons with thermotolerant microorganisms / S. A. Aitkeldiyeva, E. R. Faizulina, L. G. Tatarkina, M. B. Alimzhanova, S. T. Daugaliyeva, O. N. Auezova, A. V. Alimbetova, G. A. Spankulova, A. K. Sadanov // Rasāyan Journal of Chemistry. – 2020. – V. 13. – P. 1271–1282. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1325580>

415. Akchurin, T. K. The modifying additive for concrete compositions based on the oil refinery waste / T. K. Akchurin, V. D. Tukhareli, O. Yu. Pushkarskaya // Procedia Engineering. – 2016. – V. 150. – P. 1485–1490. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.07.087>

416. Akhmetov, L. I. Recent advances in creating biopreparations to fight oil spills in soil ecosystems in sharply continental climate of Republic of Kazakhstan / L. I. Akhmetov, I. F. Puntus, R. A. Narmanova, N. O. Appazov, T. V. Funtikova, A. A.

Regepova, A. E. Filonov // Processes. – 2022. – V. 10, No. 3. – 549.
<https://doi.org/10.3390/pr10030549>

417. Akinwumi, I. I. Effects of crude oil contamination on the index properties, strength and permeability of lateritic clay / I. I. Akinwumi, D. Diwa, N. Obianigwe // International Journal of Applied Science & Engineering. – 2014. – V. 3, No. 4. – P. 816–824. <https://doi.org/10.6088/ijaser.030400007>

418. Al-Hawash, A. B. Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment / A. B. Al-Hawash, M. A. Dragh, S. Li, A. Alhujaily, H. A. Abbood, X. Zhang, F. Ma // The Egyptian Journal of Aquatic Research. – 2018. – V. 44, No. 2. – P. 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.06.001>

419. Ali Nazem, M. Bio-oil production from refinery oily sludge using hydrothermal liquefaction technology / M. Ali Nazem, O. Tavakoli // The Journal of Supercritical Fluids. – 2017. – V. 127. – P. 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.03.020>

420. Ali, I. Overview of microbes based fabricated biogenic nanoparticles for water and wastewater treatment / I. Ali, C. Peng, Z. M. Khan, I. Naz, M. Sultan, M. Ali, I. A. Abbasi, T. Islam, T. Ye // Journal of environmental management. – 2018. – V. 230. – P. 128–150. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.073>

421. Almatawah, Q. An indigenous biosurfactant producing *Burkholderia cepacia* with high emulsification potential towards crude oil / Q. Almatawah // Journal of Environmental & Analytical Toxicology. – 2017. – V. 7, No. 6. – 528. <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000528>

422. Al-Saad, H. T. Total petroleum hydrocarbon in selected fish of shatt Al-Arab river, Iraq / H. T. Al-Saad, B. S. Al-Ali, L. J. Al-Anber, D. D. Al-Khion, A. A. Hantoush, S. M. Saleh, A. H. Alaial // International Journal of Marine Science. – 2017. – V. 7, No. 1. – P. 1–7. <https://doi.org/10.5376/ijms.2017.07.0001>

423. Amani, H. Production of microbial rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* MM1011 for *ex situ* enhanced oil recovery / H. Amani, M. M. Muller, C. Syldatk, R. Hausmann // Applied Biochemistry & Biotechnology. – 2013. – V. 170, No. 5. – P. 1080–1093. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0249-4>

424. Ambaye, T. G. Treatment of petroleum hydrocarbon contaminated soil by combination of electro-Fenton and biosurfactant-assisted bioslurry process / T. G. Ambaye, F. Formicola, S. Scaffoni, S. Prasad, C. Milanese, F. S. R. della Cuna, A. Franzetti, M. Vaccari // *Chemosphere*. – 2023. – V. 319. – 138013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138013>
425. Ananthi, V. A realistic scenario on microalgae based biodiesel production: Third generation biofuel / V. Ananthi, R. Raja, I. S. Carvalho, K. Brindhadevi, A. Pugazhendhi, A. Arun // *Fuel*. – 2021. – V. 284. – 118965. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020>
426. Anchugova, E. M. Approaches to the assessment of the efficiency of remediation of oil-polluted soils / E. M. Anchugova, E. N. Melekhina, M. Yu. Markarova, T. N. Shchemelinina // *Eurasian Soil Science*. – 2016. – V. 49. – P. 234–237. <https://doi.org/10.1134/S1064229316020022>
427. Andalib, S. Free-living amoebae in an oil refinery wastewater treatment facility / S. Andalib, H. M. Rahimi, M. Niyyati, F. Shalileh., S. Nemati, S. Rouhani, M. R. Zali, H. Mirjalali, P. Karanis // *Science of The Total Environment*. – 2022. – V. 839. – 156301. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156301>
428. Ángeles, M. T. *In situ* biosurfactant production and hydrocarbon removal by *Pseudomonas putida* CB-100 in bioaugmented and biostimulated oil-contaminated soil / M. T. Ángeles, R. V. Refugio // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2013. – V. 44, No. 2. – P. 595–605. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200040>
429. Arnau, V. G. *Pseudomonas yamanorum* sp. nov., a psychrotolerant bacterium isolated from a subantarctic environment / V. G. Arnau, L. A. Sánchez, O. D. Delgado // *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*. – 2015. – V. 65. – P. 424–431. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.065201-0>
430. Ashraf, N. Synergy between microalgae and microbiome in polluted waters / N. Ashraf, F. Ahmad, Y. Lu // *Trends in Microbiology*. – 2023 – V. 31. – No. 1. – P. 9-21. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.06.004>
431. Ashwaniy, V. R. V. Enhancing the synergistic interaction of microalgae and bacteria for the reduction of organic compounds in petroleum refinery effluent / V. R. V.

Ashwaniy, M. Perumalsamy, S. Pandian // Environmental Technology & Innovation. – 2020. – V. 19. – 100926. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100926>

432. Asim, N. Wastes from the petroleum industries as sustainable resource materials in construction sectors: Opportunities, limitations, and directions / N. Asim, M. Badiei, M. Torkashvand, M. Mohammad, M. A. Alghould, S. S. Gasaymeh, K. Sopian // Journal of Cleaner Production. – 2021. – V. 284. – 125459. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125459>

433. Askin, S. Hydrophobic cross-linked poly (dimethylsiloxane)-based sorbents for oil spill applications / S. Askin, S. Kizil, H. B. Sonmez // Macromolecular Materials and Engineering. – 2021. – V. 306, No. 2. – 2000556. <https://doi.org/10.1002/mame.202000556>

434. Atakpa, E. O. Improved degradation of petroleum hydrocarbons by co-culture of fungi and biosurfactant-producing bacteria / E. O. Atakpa, H. Zhou, L. Jiang, Y. Ma, Y. Liang, Y. Li, D. Zhang, C. Zhang // Chemosphere. – 2022. – V. 290. – 133337. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133337>

435. Ausubel, F. M. Current protocols in Molecular Biology / F. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith, K. Struhl. – N.Y.: John Wiley and Sons, 2010.

436. Azmi, A. A. Oil palm's empty fruit bunch as a sorbent material in filter system for oil-spill clean up / A. A. Azmi, C. Gomez-Fuentes, C.- Y. Wong, N. A. Shaharuddin // Plant. – 2022. V. 11, No. 1. – 127. <https://doi.org/10.3390/plants11010127>

437. Bai, N. Rhamnolipid-aided biodegradation of carbendazim by *Rhodococcus* sp. D-1: Characteristics, products, and phytotoxicity / N. Bai, S. Wang, R. Abuduaini, M. Zhang, X. Zhu, Y. Zhao // Science of the Total Environment. – 2017. – V. 590–591. – P. 343–351. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.025>

438. Bakina, L. G. Bioaugmentation: possible scenarios due to application of bacterial preparations for remediation of oil-contaminated soil / L. G. Bakina, M. V. Chugunova, Y. M. Polyak, N. V. Mayachkina, A. O. Gerasimov // Environmental

- Geochemistry and Health. – 2021. – V. 43. – P. 2347–2356.
<https://doi.org/10.1007/s10653-020-00755-4>
439. Bandura, L. Application of mineral sorbents for removal of petroleum substances: a review / L. Bandura, A. Wozzuk, D. Kołodyńska, W. Franus // Minerals. – 2017. – V. 7, No. 3. – P. 37. <https://doi.org/10.3390/min7030037>
440. Baoune, H. Bioremediation of petroleum-contaminated soils using *Streptomyces* sp. Hlh1 / H. Baoune, J. D. Aparicio, G. Pucci, A. Ould El Hadj-Khelil, M. A. Polti // Journal of Soils & Sediments. – 2019. – V. 19. – P. 2222–2230. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02259-w>
441. Barakat, K. M. Biosurfactant production by haloalkaliphilic *Bacillus* strains isolated from Red Sea, Egypt / K. M. Barakat, S. W. M. Hassan, O. M. Darwesh // The Egyptian Journal of Aquatic Research. – 2017. – V. 43, No. 3. – P. 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2017.09.001>
442. Barbosa, J. M. Multi-response optimization of bio-oil production from catalytic solar pyrolysis of *Spirulina platensis* / J. M. Barbosa, L. A. Andrade, L. G. M. Vieira, M. A. S. Barrozo // Journal of the Energy Institute. – 2020. – V. 93, No. 4. – P. 1313–1323. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2019.12.001>
443. Barik, M. Metabolic profiling of phenol biodegradation by an indigenous *Rhodococcus pyridinivorans* strain PDB9T N-1 isolated from paper pulp wastewater / M. Barik, C. P. Das, A. K. Verma, S. Sahoo, N. K. Sahoo // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2021. – V. 158. – P. 105168. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105168>
444. Bashkin V. N. Biogeochemical Engineering: Technologies for Managing Environmental Risks / V. N. Bashkin // Advances in Environmental and Engineering Research. – 2022. – V. 3, No. 4. – P. 040. <https://doi.org/10.21926/aer.2204040>
445. Baïda, N. *Pseudomonas brenneri* sp. nov., a new species isolated from natural mineral waters / N. Baïda, A. Yazour, E. Singer, D. Izard // Research in Microbiology. – 2001. – V. 152, No. 5. – P. 493–502. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(01\)01223-2](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(01)01223-2)
446. Befkadu, A. A. Surfactant-enhanced soil washing for removal of petroleum

hydrocarbons from contaminated soils: a review / A. A. Befkadu, Q. Chen // *Pedosphere*. – 2018. – V. 28, No. 3. – P. 383–410. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60027-X](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60027-X)

447. Benal, T. Study of prevailing of *Deuteromycetous* fungi on the petro-polluted soil / T. Benal, K. Shivani, R. L. Pagare, S. Chitnis // *International Research Journal of Biological Sciences*. – 2014. – V. 3, No. 11. – P. 28–31.

448. Bezza, F. A. Application of biosurfactant produced by *Ochrobactrum intermedium* CN3 for enhancing petroleum sludge bioremediation / F. A. Bezza, M. Beukes, E. M. N. Chirwa // *Process Biochemistry*. – 2015. – V. 50, No. 11. – P. 1911–1922. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.07.002>

449. Bezza, F. A. Biosurfactant assisted bioremediation of petroleum and polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic and soil media: dis. ... doctor of philosophy : chemical engineering / Bezza Fisseha Andualem. – Pretoria, 2016. – 254 p.

450. Bezza, F. A. Pyrene biodegradation enhancement potential of lipopeptide biosurfactant produced by *Paenibacillus dendritiformis* CN5 strain / F. A. Bezza, E. M. N. Chirwa // *Journal of Hazardous Material*. – 2017. – V. 321. – P. 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.08.035>

451. Bhairavi, D. A review of bio-based materials for oil spill treatment / D. Bhairavi, M. Sillanpää, S. Kalliola // *Water Research*. – 2018. – Vol. 135. – P. 262–277. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.034>

452. Bhardwaj, N. A review on sorbent devices for oil-spill control / N. Bhardwaj, A. N. Bhaskarwar // *Environmental Pollution*. – 2018. – V. 243, Part B. – P. 1758–1771. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.141>

453. Biodiesel production by country [online source]. – 2021. – access mode: <https://www.indexmundi.com/energy/?product=biodiesel&graph=production&display=r>
[ank](https://www.indexmundi.com/energy/?product=biodiesel&graph=production&display=r)

454. Bodor, A. Intensification of *ex situ* bioremediation of soils polluted with used lubricant oils: a comparison of biostimulation and bioaugmentation with a special focus on the type and size of the inoculum / A. Bodor, P. Petrovszki, Á. E. Kis, G. E. Vincze, K. Laczi, N. Bounedjoun, Á. Szilágyi, B. Szalontai, G. Feigl, R. Kovács, G.

Rákhely, K. Perei // International Journal of Environmental Research & Public Health. – 2020. – V. 17. – 4106. <https://doi.org/10.3390/ijerph17114106>

455. Bogatyrenko, E. A. Psychrotrophic hydrocarbon-oxidizing bacteria isolated from bottom sediments of Peter the Great Bay, Sea of Japan / E. A. Bogatyrenko, A. V. Kim, N. S. Polonik, T. I. Dunkai, A. L. Ponomareva, D. V. Dashkov // Oceanology. – 2022. – V. 62. – P. 379–389. <https://doi.org/10.1134/S000143702203002X>

456. Borah, G. Crude oil associated heavy metals (HMs) contamination in agricultural land: Understanding risk factors and changes in soil biological properties / G. Borah, H. Deka // Chemosphere. – 2023. – V. 310. – 136890. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136890>

457. Boranbayeva, A. N. Remediation of soils contaminated with oil with a biological product with immobilization of bacteria by carriers from local soils / A. N. Boranbayeva, S. Syrlybekkyzy, G. Zh. Kenzhetayev, R. U. Bayamirova, A. K. Serikbayeva // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2022. – V. 1043. – 012047. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1043/1/012047>

458. Braghiroli, F. L. Activated biochar as an effective sorbent for organic and inorganic contaminants in water / F. L. Braghiroli, H. Bouafif, C. M. Neculita, A. Koubaa // Water, Air, & Soil Pollution. – 2018. – V. 229, No. 7. – 230. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3889-8>

459. Burghal, A. A. Isolation and identification of actinomycetes strains oil refinery contaminated soil, Basrah-Iraq / A. A. Burghal, K. H. Mahdi, N. A. Al-Mudaffar // International Journal of Innovations in Engineering and Technology. – 2015. – V. 2. – P. 20–27.

460. Burns, R. G. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions // R. G. Burns, J. L. DeForest, J. Marxsen, R. L. Sinsabaugh, M. E. Stromberger, M. D. Wallenstein, M. N. Weintraub, A. Zoppini // Soil Biology & Biochemistry – 2013. – V. 58. – P. 216–234. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>

461. Cabral, L. Microbial communities in petroleum-contaminated sites: Structure and metabolisms / L. Cabral, P. Giovanella, E. P. Pellizzer, E. H. Teramoto,

C. H. Kiang, L. D. Sette // *Chemosphere*. – 2021. – V. 286. – 131752.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131752>

462. Cámara, B. *Pseudomonas reinekei* sp. nov., *Pseudomonas moorei* sp. nov. and *Pseudomonas mohnii* sp. nov., novel species capable of degrading chlorosalicylates or isopimaric acid / B. Cámara, C. Strömpl, S. Verborg, C. Spröer, D. H. Pieper, B. J. Tindall // *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*. – 2007. – V. 57, Part 5. – P. 923–931. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64703-0>

463. Campelo, R. P. D. S. Oil spills: The invisible impact on the base of tropical marine food webs / R. P. D. S. Campelo, C. D. M. D. Lima, C. S. de Santana, A. J. da Silva, S. Neumann-Leitão, B. P. Ferreira, M. O. Soares, M. D. Melo Júnior, P. A. M. C. Melo / *Marine Pollution Bulletin*. – 2021. – V. 167. – 112281.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112281>

464. Campos, V. L. *Pseudomonas arsenicoxydans* sp nov., an arsenite-oxidizing strain isolated from the Atacama desert / V. L. Campos, C. Valenzuela, P. Yarza, P. Kämpfer, R. Vidal, C. Zaror, M.- A. Mondaca, A. Lopez-Lopez, R. Rosselló-Móra // *Applied Microbiology*. – 2010. – V. 33, No. 4. – P. 193–197.
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.02.007>

465. Carmona-Cabello, M. Valorization of food waste from restaurants by transesterification of the lipid fraction / M. Carmona-Cabello, D. Leiva-Candia, J. L. Castro-Cantarero, S. Pinzi, M. P. Dorado // *Fuel*. – 2018. – V. 215. – P. 492–498.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.11.096>

466. Carroll, J. L. Assessing impacts of simulated oil spills on the Northeast Arctic cod fishery / J. L. Carroll, F. Vikebø, D. Howell, O. J. Broch, R. Nepstad, S. Augustine, G. M. Skeie, R. Bast, J. Juselius // *Marine Pollution Bulletin*. – 2018. – V. 126. – P. 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.069>

467. Castillo López, B. Production of biodiesel around vegetable oil and microalgae by extraction of fatty acids and enzymatic esterification / B. Castillo Lopez, L. Esteban Cerdán, A. Robles Medina, E. Navarro López, L. Martín Valverde, E. Hita Peña, P. A. González Moreno, E. Molina Grima // *Journal of Bioscience & Bioengineering*. – 2015. – V. 119, No. 6. – P. 706–711.

<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.11.002>

468. Catania, V. Innovative, ecofriendly biosorbent-biodegrading biofilms for bioremediation of oil- contaminated water / V. Catania, F. Lopresti, S. Cappello, R. Scaffaro, P. Quatrini // *New Biotechnology*. – 2020. – V. 58. – P. 25–31.

<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.04.001>

469. Cecotti, M. Efficiency of surfactant-enhanced bioremediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil: Link with bioavailability and the dynamics of the bacterial community / M. Cecotti, B. M. Coppotelli, V. C. Mora, M. Viera, I. S. Morelli // *Science of the Total Environment*. – 2018. – V. 634. – P. 224–234.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.303>

470. Chakravarty, P. Ecological risk assessment of priority PAHs pollutants in crude oil contaminated soil and its impacts on soil biological properties / P. Chakravarty, D. Chowdhury, H. Deka // *Journal of Hazardous Materials*. – 2022. – V. 437. – 129325. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129325>

471. Chaprão, M. J. Formulation and application of a biosurfactant from *Bacillus methylotrophicus* as collector in the flotation of oily water in industrial environment / M. J. Chaprão, R. C. F. Soares da Silva, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, L. A. Sarubbo // *Journal of biotechnology*. – 2018. – № 285. – P. 15–22.

<https://doi.org/10.1016/j.biotech.2018.08.016>

472. Chen, L. Selective adsorption and efficient degradation of oil pollution by microorganisms immobilized natural biomass aerogels with aligned channels / L. Chen, X. Jiang, N. Qu, H. Lu, J. Xu, Y. Zhang, G. Li. // *Materials Today Sustainability*. – 2022. – V. 19. – 100208. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2022.100208>

473. Chen, T. Comparative metabolomic analysis of the green microalga *Chlorella sorokiniana* cultivated in the single culture and a consortium with bacteria for wastewater remediation / T. Chen, Q. Zhao, L. Wang, Y. Xu, W. Wei // *Applied biochemistry and biotechnology*. – 2017. – V. 183, No. 3. – P. 1062–1075.

<https://doi.org/10.1007/s12010-017-2484-6>

474. Chen, W.- M. *Flavobacterium brevivitae* sp. nov., isolated from river water / W.- M. Chen, Y.- L. Chen, S.- Y. Sheu // *International Journal of Systematic and*

Evolutionary Microbiology. – 2016. – V. 66, No. 4. – P. 1705–1712.
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000928>

475. Chong, H. S. Real-world fuel consumption, gaseous pollutants, and CO₂ emission of light-duty diesel vehicles / H. S. Chong, S. Kwon, Y. Lim, J. Lee // Sustainable Cities & Society. – 2020. – V. 53. – 101925.
<https://doi.org/10.1016/j.scs.2019.101925>

476. Chowdhury, H. Third-generation biofuels from microalgae: a review / H. Chowdhury, B. Loganathan// Current Opinion in Green & Sustainable Chemistry. – 2019. – V. 20. – P. 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.09.003>

477. Church, J. Multiscale investigation of a symbiotic microalgal-integrated fixed film activated sludge (MAIFAS) process for nutrient removal and photo-oxygenation / J. Church, H. Ryu, A. H. M. A. Sadmani, A. A. Randall, J. S. Domingo, W. H. Lee // Bioresource Technology. – 2018. – V. 268. – P. 128–138.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.123>

478. Cocârță, D. M. Crude oil contaminated sites: Evaluation by using risk assessment approach / D. M. Cocârță, M. A. Stoian, A. Karademir // Sustainability. – 2017. – V. 9, No. 8. – 1365. <https://doi.org/10.3390/su9081365>

479. Cooper, D. G. Surface active agents from two *Bacillus* species / D. G. Cooper, B. G. Goldenberg // Applied & Environmental Microbiology. – 1987. – V.53, No. 2. – P. 224–229. <https://doi.org/10.1128/aem.53.2.224-229.1987>

480. Coppock, R. W. Biomarkers of petroleum products toxicity / R. W. Coppock, M. M. Dziwenka // Biomarkers in Toxicology // Ed. by R. C. Gupta. – London: Academic Press, 2014. – P. 647–654. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814655-2.00032-3>

481. Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption // Official Journal of the European Communities. – 1998. – December, 5 – 23 p.

482. Crampon, M. Low effect of phenanthrene bioaccessibility on its biodegradation in diffusely contaminated soil / M. Crampon, A. Cébron, F. Portet-

Koltalo, S. Uroz, F. le Derf, J. Bodilis // *Environmental Pollution* – 2017. – V. 225. – P. 663–673. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.053>

483. Czarny, J. Assessment of soil potential to natural attenuation and autochthonous bioaugmentation using microarray and functional predictions from metagenome profiling / J. Czarny, J. Staninska-Pięta, A. Piotrowska-Cyplik, Ł. Wolko, K. Staninski, B. Hornik, P. Cyplik // *Annals of Microbiology*. – 2019. – V. 69. – P. 945–955. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01486-3>

484. Dabboussi, F. Taxonomic study of bacteria isolated from Lebanese spring waters: proposal for *Pseudomonas cedrella* sp. nov. and *P. orientalis* sp. nov. / F. Dabboussi, M. Hamze, M. Elomari, S. Verhille, N. Baida, D. Izard, H. Leclerc // *Research in Microbiology*. – 1999. – V. 150. – P. 303–316. [https://doi.org/10.1016/s0923-2508\(99\)80056-4](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(99)80056-4)

485. Daccò, C. Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: A review / C. Daccò, C. Girometta, M. D. Asemoloye, G. Carpani, A. M. Picco, S. Tosi // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2020. – V. 147. – P. 104866. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104866>

486. Daneshvar, E. Performance evaluation of different harvesting methods and cultivation media on the harvesting efficiency of microalga and their fatty acids profile / E. Daneshvar, M. J. Zarrinmehr, M. Kousha, A. Bhatnagar // *Fuel*. – 2020. – V. 280. – P. 118592. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118592>

487. Das, S. Microbial bioremediation: a potential tool for restoration of contaminated areas / S. Das, H. R. Dash // *Microbial Biodegradation & Bioremediation* / S. Das (Ed). – London: Elsevier Inc., 2014a – P. 1–21. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00001-7>

488. Das, S. Understanding molecular identification and polyphasic taxonomic approaches for genetic relatedness and phylogenetic relationships of microorganisms / S. Das, H. R. Dash, N. Mangwani, J. Chakraborty, S. Kumari // *Journal of Microbiological Methods*. – 2014b. – V. 103. – P. 80–100. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.05.013>

489. Dawoodi, V. The study of heterotrophic and crude oil-utilizing soil fungi in crude oil contaminated regions / V. Dawoodi, M. Madani, A. Tahmourespour, Z. Golshani // *Journal of Bioremediation & Biodegradation*. – 2015. – V. 6, No. 2. – 270. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000270>
490. de Almeida, D. G. Biosurfactants: promising molecules for petroleum biotechnology advances / D. G. de Almeida, R. C. F. Soares da Silva, J. M. Luna, R. D. Rufino, V. A. Santos, I. M. Banat, L. A. Sarubbo // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – V. 7. – 1718. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01718>
491. de Jesus, D.S.S. Design automation of the manufacturing process of a mini-biodiesel plant / D.S.S. de Jesus // *IFAC Proceedings Volumes*. – 2013. – Vol. 46. – № 24. – P. 32–39. DOI: 10.3182/20130911-3-BR-3021.00006
492. Delorme, S. *Pseudomonas lini* sp. nov., a novel species from bulk and rhizospheric soils / S. Delorme, P. Lemanceau, R. Christen, T. Corberand, J.-M. Meyer, L. Gardan // *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*. – 2002. – V. 52, Part 2. – P. 513–523. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-513>
493. Demarche, P. Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship / P. Demarche, C. Junghanns, R. R. Nair, S. N. Agathos // *Biotechnology Advances*. – 2012. – V. 30, No. 5. – P. 933–953. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.013>
494. Dhaka, A. A review on physical remediation techniques for treatment of marine oil spills / A. Dhaka, P. Chattopadhyay // *Journal of Environmental Management*. – 2021. – V. 288. – 112428. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112428>
495. Di Caprio, F. Cultivation processes to select microorganisms with high accumulation ability / F. Di Caprio // *Biotechnology Advances*. – 2021. – V. 49. – 107740. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107740>
496. Dickinson, S. A review of biodiesel production from microalgae / S. Dickinson, M. Mientus, D. Frey, A. Amini-Hajibashi, S. Ozturk, F. Shaikh, D. Sengupta, M. M. El-Halwagi // *Clean Technologies and Environmental Policy*. – 2017. – V.19, No. 3. – P. 637–668. <https://doi.org/10.1007/s10098-016-1309-6>

497. Dindar, E. Variations of soil enzyme activities in petroleum-hydrocarbon contaminated soil / E. Dindar, F. O. T. Şağban, H. S. Başkaya // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2015. – V. 105. – P. 268–275. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.09.011>

498. Dos Santos, J. J. Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum: A review / J. J. Dos Santos, L. T. Maranhão // Journal of Environmental Management. – 2018. – V. 210. – P. 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.015>

499. Dos Santos, L. B. Oily water treatment in a multistage tower operated under a novel induced pre-saturation process in the presence of a biosurfactant as collector / L. B. dos Santos, P. P. F. Brasileiro, R. D. Baldo, L. A. Sarubbo, V. A. dos Santos // Biotechnology Reports. – 2021. – V. 30. – e00638. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00638>

500. Doshi, B. A review of bio-based materials for oil spill treatment / B. Doshi, M. Sillanpää, S. Kalliola // Water Research. – 2018. – V. 135. – P. 262–277. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.034>

501. Dourou, M. Critical steps in carbon metabolism affecting lipid accumulation and their regulation in oleaginous microorganisms / M. Dourou, D. Aggeli, S. Papanikolaou, G. Aggelis // Applied Microbiology & Biotechnology. – 2018. – V. 102. – P. 2509–2523. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8813-z>

502. Drakontis, C. E. Biosurfactants: Formulations, properties, and applications / C. E. Drakontis, S. Amin // Current Opinion in Colloid & Interface Science. – 2020. – V. 48. – P. 77–90. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.03.013>

503. El-Shafay, A. S. Waste to energy: Production of poultry-based fat biodiesel and experimental assessment of its usability on engine behaviors / A. S. El-Shafay, Ü. Ağbulut, E. A. Attia, K. L. Touileb, M. S. Gad // Energy. – 2023. – V. 262, Part B. – 125457. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.125457>

504. Elshafie, A. E. Sophorolipids production by *Candida bombicola* ATCC 22214 and its potential application in microbial enhanced oil recovery / A. E. Elshafie, S. J. Joshi, Y. M. Al-Wahaibi, A. S. Al-Bemani, S. N. Al-Bahry, D. Al-Maqbali,

I. M. Banat // *Frontiers in Microbiology*. – 2015. – V. 6. – 1324.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01324>

505. Environmental pollutants and their bioremediation approaches / Ed. by R.N. Bharagava. – Oxfordshire, UK: Taylor & Francis, 2017. – P. 1–22.

506. Erofeevskya, L. A. Liquidation of oil and petroleum products spills based on use of Na and Ca-differences of zeolite / L. A. Erofeevskya, A. R. Aleksandrov // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2020. – V. 459. – 052011.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/459/5/052011>

507. Evdokimova, G. A. Complexes of potentially pathogenic microscopic fungi in anthropogenic polluted soils / G. A. Evdokimova, M. V. Korneykova, E. V. Lebedeva // *Journal of Environmental Science & Health. Part A, Toxic/ Hazardous Substances & Environmental Engineering*. – 2013. – V. 48, No. 7. – P. 746–752.
<https://doi.org/10.1080/10934529.2013.744615>

508. Ezeldin, M. Determination of some heavy metals in raw petroleum wastewater samples before and after passing on *Australis phragmites* plant / M. Ezeldin, S. A. G. Nasir, A. M. Masaad, N. M. Suleman // *American Journal of Environmental Protection*. – 2015. – V. 4, No. 6. – P. 354–357.
<https://doi.org/10.11648/j.ajep.20150406.22>

509. Fanaei, F. Enhanced bioremediation of oil-contaminated soil in a slurry bioreactor by H₂O₂-stimulation of oil-degrading/biosurfactant-generating bacteria: performance optimization and bacterial metagenomics F. Fanaei, G. Moussavi, S. Shekoohiyan // *Biodegradation*. – 2023. – V. 34. – P. 83–101.
<https://doi.org/10.1007/s10532-022-10008-z>

510. Fekry, M. Eco-friendly adsorbents based on abietic acid, boswellic acid, and chitosan/magnetite for removing waste oil from the surface of the water / M. Fekry, S. M. Elmesallamy, N. R. A. El-Rahman, M. Bekhit, H. A. Elsaied // *Environmental Science & Pollution Research*. – 2022. – V. 29. – P. 64633–64646.
<https://doi.org/10.1007/s11356-022-20169-2>

511. Fodrie, F. J. Integrating organismal and population responses of estuarine fishes in Macondo spill research / F. J. Fodrie, K. W. Able, F. Galvez, K. L. Heck Jr.,

O. P. Jensen, P. C. López-Duarte, C. W. Martin, R. E. Turner, A. Whitehead // *BioScience*. – 2014. – V. 64, No. 9. – P. 778–788. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu123>

512. Fouilland, E. Influence of bacteria on the response of microalgae to contaminant mixtures / E. Fouilland, A. Galès, I. Beaugelin, E. Lanouguère, O. Pringault, C. Leboulanger // *Chemosphere*. – 2018. – V. 211. – P. 449–455. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.161>

513. Fox, C. H. A preliminary spatial assessment of risk: Marine birds and chronic oil pollution on Canada's pacific coast / C. H. Fox, P. D. O'Hara, S. Bertazzon, K. Morgan, F. E. Underwood, P. C. Paquet // *Science of the Total Environment*. – 2016. – V. 573. – P. 799–809. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.145>

514. Freitas, B. G. Formulation of a commercial biosurfactant for application as a dispersant of petroleum and by-products spilled in oceans / B. G. Freitas, J. G. M. Brito, P. P. F. Brasileiro, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, L. A. Sarubbo // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – V. 7. – 1646. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01646>

515. Frossard, A. Microbial carbon use and associated changes in microbial community structure in high-Arctic tundra soils under elevated temperature / A. Frossard, L. De Maeyer, M. Adamczyk, M. Svenning, E. Verleyen, B. Frey // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2021. – V.162. – 108419. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108419>

516. Funtikova, T. V. Bioremediation of oil-contaminated soil of the Republic of Kazakhstan using a new biopreparation / T. V. Funtikova, L. I. Akhmetov, I. F. Puntus, P. A. Mikhailov, N. O. Appazov, R. A. Narmanova, A. E. Filonov, I. P. Solyanikova // *Microorganisms*. – 2023. – V. 11, No. 2. – 522. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020522>

517. Gabov, D. Vertical distribution of PAHs during the evolution of permafrost peatlands of the European arctic zone / D. Gabov, E. Yakovleva, R. Vasilevich // *Applied Geochemistry*. – 2020. – V. 123. – 104790. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104790>

518. Gabov, D. N. Polycyclic aromatic hydrocarbons in peat mounds of the

permafrost zone / D. N. Gabov, E. V. Yakovleva, R. S. Vasilevich, O. L. Kuznetsov, V. A. Beznosikov // *Eurasian Soil Science*. – 2019. – V. 52. – P. 1038–1050.

<https://doi.org/10.1134/S1064229319090035>

519. Gaide, I. Natural rocks–heterogeneous catalysts for oil transesterification in biodiesel synthesis / I. Gaide, V. Makareviciene, E. Sendzikiene, K. Kazancev // *Catalysts*. – 2021. – V. 11, No. 3. – 384. <https://doi.org/10.3390/catal11030384>

520. Gao, N. Study of oily sludge pyrolysis combined with fine particle removal using a ceramic membrane in a fixed-bed reactor / N. Gao, X. Wang, C. Quan, C. Wu // *Chemical Engineering and Processing – Process Intensification*. – 2018. – V. 128. – P. 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2018.03.002>

521. Garousin, H. A combinational strategy mitigated old-aged petroleum contaminants: Ineffectiveness of biostimulation as a bioremediation technique / H. Garousin, A. A. Pourbabae, H. A. Alikhani, N. Yazdanfar // *Frontiers in microbiology*. – 2021. – V. 12. – 642215. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.642215>

522. Gaul, M. A comparative study of small-scale rural energy service pathways for lighting, cooking and mechanical power / M. Gaul // *Applied Energy*. – 2013. – V. 101. – P. 376–392. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.03.050>

523. Gholami-Shiri, J. Exploitation of novel synthetic bacterial consortia for biodegradation of oily-sludge TPH of Iran gas and oil refineries / J. Gholami-Shiri, D. Mowla, S. Dehghani, P. Setoodeh // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. – 2017. – V. 5, No. 3. – P. 2964–2975. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.05.056>

524. Ghosh, A. Systems and synthetic biology for the microbial production of biofuels / A. Ghosh // *Current Metabolomics*. – 2016. – V.4, No. 1. – P. 5–13. <https://doi.org/10.2174/2213235X03666151012192823>

525. Goncharova, A. Screening and characterization of emulsifying hydrocarbon-degrading bacteria from coastal waters of the Caspian sea / A. Goncharova, T. Karpenyuk, A. Kalbayeva, T. Mukasheva, N. Bektileuova // *NAŠE MORE: znanstveni časopis za more i pomorstvo*. – 2021. – V. 68, No. 2. – P. 74–83. <https://doi.org/10.17818/NM/2021/2.2>

526. Gong, Y. Development of multifarious carrier materials and impact conditions of immobilised microbial technology for environmental remediation / Y. Gong, Q. Niu, Y. Liu, J. Dong, M. Xia // *Environmental Pollution*. – 2022. – V. 314. – 120232. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120232>

527. Goswami, L. A critical review on prospects of bio-refinery products from second and third generation biomasses / L. Goswami, R. Kayalvizhi, P. K. Dikshit, K. C. Sherpa, S. Roy, A. Kushwaha, B. S. Kim, R. Banerjee, S. Jacob, R. C. Rajak // *Chemical Engineering Journal*. – 2022. – V. 448. – 137677. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137677>

528. Goswami, L. Simultaneous heavy metal removal and anthracene biodegradation by the oleaginous bacteria *Rhodococcus opacus* / L. Goswami, N. A. Manikandan, K. Pakshirajan, G. Pugazhenthii // *3 Biotech*. – 2017. – V. 7. – 37. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0597-1>

529. Gudiña, E. J. Isolation and study of microorganisms from oil samples for application in microbial enhanced oil recovery / E. J. Gudiña, J. F. B. Pereira, L. R. Rodrigues, J. A. P. Coutinho, J. A. Teixeira // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2012. – V. 68. – P. 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.01.001>

530. Guerra, A. B. Metagenome enrichment approach used for selection of oil-degrading bacteria consortia for drill cutting residue bioremediation / A. B. Guerra, J. S. Oliveira, R. C. B. Silva-Portela, W. Araújo, A. C. Carlos, A. T. R. Vasconcelos, A. T. Freitas, Y. S. Domingos, M. F. de Farias, G. J. T. Fernandes, L. F. Agnez-Lima // *Environmental Pollution*. – 2018. – V. 235. – P. 869–880. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.014>

531. Gutierrez, T. Preparation and characterization of a marine *Halomonas* surface-active exopolymer / T. Gutierrez, G. A. Morris, D. Ellis, B. Mulloy, M. D. Aitken // *Applied Microbiology and biotechnology*. – 2020. – V. 104. – P. 1063–1076. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10270-x>

532. Gutiérrez-Chávez, C. The ecological roles of microbial lipopeptides: Where are we going? / C. Gutiérrez-Chávez, N. Benaud, B. C. Ferrari // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. – 2021. – V. 19. – P. 1400–1413.

<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.02.017>

533. Habib, S. Production of lipopeptide biosurfactant by a hydrocarbon-degrading Antarctic *Rhodococcus* / S. Habib, S. A. Ahmad, W. L. Wan Johari, M. Y. Abd Shukor, S. A. Alias, J. Smykla, N. H. Saruni, N. Syafiqah, A. Razak, N. A. Yasid // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – V. 21, No. 17. – 6138. <https://doi.org/10.3390/ijms21176138>

534. Hajabbasi, M. A. Importance of soil physical characteristics for petroleum hydrocarbons phytoremediation: A review / M. A. Hajabbasi // African Journal of Environmental Science & Technology. – 2016. – V. 10, No. 11. – P. 394–405. <https://doi.org/10.5897/AJEST2016.2169>

535. Haleyur, N. Influence of bioaugmentation and biostimulation on PAH degradation in aged contaminated soils: Response and dynamics of the bacterial community / N. Haleyur, E. Shahsavari, S. S. Jain, E. Koshlaf, V. B. Ravindran, P. D. Morrison, A. M. Osborn, A. S. Ball // Journal of Environmental Management. – 2019. – V. 238. – P. 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.115>

536. Haney, J. C. Bird mortality from the Deepwater Horizon oil spill. I. Exposure probability in the offshore Gulf of Mexico / J. C. Haney, H. J. Geiger, J. W. Short // Marine Ecology Progress Series. – 2014. – V. 513. – P. 225–237. <https://doi.org/10.3354/meps10991>

537. Harvey, H. R. Polycyclic aromatic and aliphatic hydrocarbons in Chukchi Sea biota and sediments and their toxicological response in the Arctic cod, *Boreogadus saida* / H. R. Harvey, K. A. Taylor, H. V. Pie, C. L. Mitchelmore // Deep Sea Research. Part II: Topical Studies in Oceanography. – 2014. – V. 102. – P. 32–55. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2013.07.013>

538. Hazen, T. C. Marine oil biodegradation / T. C. Hazen, R. C. Prince, N. Mahmoudi // Environmental Science & Technology. – 2016. – V. 50. – P. 2121–2129. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03333>

539. He, Y. An integrated algal-bacterial system for the bio-conversion of wheat bran and treatment of rural domestic effluent / Y. He, R. Wang, G. Liviu, Q. Lu // Journal of Cleaner Production. – 2017. – V. 165. – P. 458–467.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.119>

540. He, Y. Environmental risks of antibiotics in soil and the related bioremediation technologies / Y. He, K. Zhou, Y. Rao, R. Ji // Chinese Journal of Biotechnology. – 2021. – V. 37, No. 10. – P. 3487–3504.

<https://doi.org/10.13345/j.cjb.210421>

541. Hirsch, P. *Deinococcus frigens* sp. nov., *Deinococcus saxicola* sp. nov., and *Deinococcus marmoris* sp. nov., low temperature and draught-tolerating, UV-resistant bacteria from continental Antarctica / P. Hirsch, C. A. Gallikowski, J. Siebert, K. Peissl, R. Kroppenstedt, P. Schumann, E. Stackebrandt, R. Anderson // Systematic and Applied Microbiology. – 2004. – V. 27, No. 6. – P. 636–645.

<https://doi.org/10.1078/0723202042370008>

542. Ho, D. P. A mini review on renewable sources for biofuel / D. P. Ho, H. H. Ngo, W. Guo // Bioresource Technology. – 2014. – V.169, No. 10. – P. 742–749.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.022>

543. Hoang, A. T. A report of oil spill recovery technologies / A. T. Hoang, V. V. Pham, D. N. Nguyen // International Journal of Applied Engineering Research. – 2018. – V. 13, No. 7. – P. 4915–4928.

544. Hoang, A. T. Impacts of COVID-19 pandemic on the global energy system and the shift progress to renewable energy: Opportunities, challenges, and policy implications / A. T. Hoang, S. Nižetić, A. I. Olcer, H. C. Ong, W.- H. Chen, C. T. Chong, S. Thomas, S. A. Bandh j, X. P. Nguyen // Energy Policy. – 2021. – V. 154. – 112322. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2021.112322>

545. Hochberg, S. Y. Materials and energy recovery from oily sludges removed from crude oil storage tanks (tank bottoms): A review of technologies / S. Y. Hochberg, B. Tansel, S. Laha // Journal of Environmental Management. – 2022. – V. 305. – 114428. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114428>

546. Hošková, M. Characteristics of rhamnolipids produced by non-pathogenic bacteria *Acinetobacter* and *Enterobacter* / M. Hošková, O. Schreiberová, R. Ježdík, J. Chudoba, J. Masák, K. Sigler, T. Rezanka // Bioresource Technology. – 2013. – V. 130. – P. 510–516. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.085>

547. Hu, G. Comparative life-cycle assessment of traditional and emerging oily sludge treatment approaches / G. Hu, H. Feng, P. He, J. Li, K. Hewage, R. Sadiq // Journal of Cleaner Production. – 2020. – V. 251. – 119594. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119594>

548. Huang, Q. A model for predicting solid particle behavior in petroleum sludge during centrifugation / Q. Huang, X. Han, F. Mao, Y. Chi, J. Yan // Fuel. – 2014. – V. 117, Part A. – P. 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.09.002>

549. Hussain, I. Rhizoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils: improvement opportunities and field applications / I. Hussain, M. Puschenreiter, S. Gerhard, P. Schöftner, S. Yousaf, A. Wang, J. H. Syed, T. G. Reichenauer // Environmental and Experimental Botany. – 2018. – V. 147. – P. 202-219. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.12.016>

550. Iloeje, A. F. Effect of crude oil on permeability properties of the soil / A. F. Iloeje, V. Aniago // International Journal of Trend in Scientific Research and Development. – 2016. – V. 1, No. 1. – P. 39–43.

551. Iqbal, M. Z. Effects of motor oil pollution on soil and seedling growth of *Parkinsonia aculeata* L. / M. Z. Iqbal, S. Khursheed, M. Shafiq // Scientia Agriculturae. – 2016. – V. 13, No. 3. – P. 130–136. <https://doi.org/10.15192/PSCP.SA.2016.13.3.130136>

552. Ismail, M. M. Biological testing and toxicity bioassays in biodegradation: toward better process control / M. M. Ismail, M. Hassan, T. M. Essam // methods in Pharmacology and Toxicology. Toxicity and Biodegradation Testing / Ed. by E. D. Bidoia, R. N. Montagnolli. New York, USA: Humana New York, 2018. – P. 185–205. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7425-2_9

553. Issayeva, A. U. Consortium of hydrocarbon-oxidizing microorganisms as a basis for a biological product for treating petroleum industry waste in Southern Kazakhstan / A. U. Issayeva, A. A. Uspabayeva, A. M. Sattarova, Z. A. Shingisbayeva, R. A. Isaev // Ekoloji. – 2017. – V. 26, No. 100. – e100001.

554. Ivanova, E. P. *Pseudomonas brassicacearum* subsp. *neoaurantiaca* sp. nov., isolated from a drinking water reservoir / E. P. Ivanova, N. M. Gorshkova, T.

Sawabe, K. Hayashi, N. I. Kalinovskaya, A. M. Lysenko, N. V. Zhukova, D. V. Nicolau, T. A. Kuznetsova, V. V. Mikhailov, R. Christen // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2009. – V. 52. – P. 2113–2120. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02197-0>

555. Ivshina, I. B. Features of diclofenac biodegradation by *Rhodococcus ruber* IEGM 346 / I. B. Ivshina, E. A. Tyumina, M. V. Kuzmina, E. V. Vikhareva // Scientific Reports. – 2019. – V. 9. – 9159. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45732-9>.

556. Ivshina, I. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil spiked with model mixtures of petroleum hydrocarbons and heterocycles using biosurfactants from *Rhodococcus ruber* IEGM 231 / I. Ivshina, L. Kostina, A. Krivoruchko, M. Kuyukina, T. Peshkur, P. Anderson, C. Cunningham // Journal of Hazardous Materials. – 2016. – V. 312. – P. 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.007>

557. Jafarinejad, S. Environmental impacts of the petroleum industry, protection options, and regulations / S. Jafarinejad // Petroleum Waste Treatment and Pollution Control. First Edition / Ed. by P. Jardim. – Oxford: Butterworth-Heinemann, 2017. – P. 85–116. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809243-9.00003-1>

558. Janajreh, I. Anaerobic co-digestion of petroleum hydrocarbon waste and wastewater treatment sludge / I. Janajreh, A. Alshehi, S. Elagroudy // International Journal of Hydrogen Energy. – 2020. – V. 45, No. 20. – P. 11538–11549. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.05.100>

559. Jesna, J. Investigation on the effects of hydrocarbon spillage on soil properties / J. Jesna, G. Hari // International Journal of Engineering Research & Technology. – 2015. – V. 4, No. 10. – P. 136–140.

560. Ji, F. Production of rhamnolipids with a high specificity by *Pseudomonas aeruginosa* M408 isolated from petroleum-contaminated soil using olive oil as sole carbon source / F. Ji, L. Li, S. Ma, J. Wang, Y. Bao // Annals of Microbiology. – 2016. – V. 66, No. 3. – P. 1145–1156. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1203-9>

561. Jing, G. Numerical investigation of the behavior of stone ballast mixed by steel slag in ballasted railway track / G. Jing, J. Wang, H. Wang, M. Siahkouhi // Construction and Building Materials. – 2020. – V. 262. – 120015.

<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.120015>

562. Johnson, O. A. Encapsulation of petroleum sludge in building blocks / O. A. Johnson, N. Madzlan, I. Kamaruddin // *Construction and Building Materials*. – 2015. – V. 78. – P. 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.12.122>

563. Johnson, P. Effect of synthetic surfactants on the environment and the potential for substitution by biosurfactants / P. Johnson, A. Trybala, V. Starov, V.J. Pinfield // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2021. – V. 288. – 102340. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102340>

564. Joshi, P. A. Screening and isolation of biosurfactant producing bacteria from petroleum contaminated soil / P. A. Joshi, D. B. Shekhawat // *European Journal of Experimental Biology*. – 2014. – V. 4, No. 4. – P. 164–169.

565. Joy, S. Biosurfactant producing bacteria from hydrocarbon contaminated environment / S. Joy, T. Butalia, S. Sharma, P. K. S. M. Rahman // *Biodegradation and bioconversion of hydrocarbons. Environmental footprints and eco-design of products and processes* // K. Heimann, O. P. Karthikeyan, S. S. Muthu (Eds.). – Singapore: Springer, 2017a. – P. 259–305. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0201-4_8

566. Joy, S. Biosurfactant production and concomitant hydrocarbon degradation potentials of bacteria isolated from extreme and hydrocarbon contaminated environments / S. Joy, P. K. S. M. Rahman, S. Sharma // *Chemical Engineering Journal*. – 2017b. – V. 317. – P. 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.02.054>

567. Kaczyńska, G. Soil dehydrogenases as an indicator of contamination of the environment with petroleum products / G. Kaczyńska, A. Borowik, J. Wyszowska // *Water, Air, & Soil Pollution*. – 2015. – V. 226. – P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2642-9>

568. Kalmykova, E. V. Bioremediation of contaminated light-chestnut soils in southern Russia / E. V. Kalmykova, A. I. Belyaev, N. Yu. Petrov, A. M. Pugacheva, M. P. Aksenov // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2022. – V. 996. – 012026. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/996/1/012026>

569. Kapadia, S. G. Current trend and potential for microbial biosurfactants / S. G. Kapadia, B. N. Yagnik // *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*. – 2013. – V. 4, No. 1. – P. 1–8.

570. Karapetyan, K. G. Foamed glassy phosphate materials for biosorbents // K. G. Karapetyan, O. V. Denisova / *Materials Science Forum*. – 2021. – V. 1040. – P. 41–46. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.1040.41>.

571. Karlapudi, A. P. Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution – a review / A. P. Karlapudi, T. C. Venkateswarulu, J. Tammineedi, L. Kanumuri, B. K. Ravuru, V. R. Dirisala, V. P. Kodali // *Petroleum*. – 2018. – V. 4, No. 3. – P. 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.petlm.2018.03.007>

572. Karnaeva, A. Aged diesel and heavy metal pollution in the Arctic tundra (Yamal Peninsula, Russia) / A. Karnaeva, O. Kulikova, E. Mazlova, A. Buryak // *Science of The Total Environment*. – 2021. – V. 792. – 148471. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148471>

573. Katoh, K. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization / K. Katoh, J. Rozewicki, K. D. Yamada // *Briefings in Bioinformatics*. – 2019. – V. 20. – P. 1160–1166. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx108>

574. Ke, C. Y. Biotreatment of oil sludge containing hydrocarbons by *Proteus mirabilis* SB / C. Y. Ke, L. Y. Chen, F. L. Qin, W. J. Sun, S. C. Wang, Q. Z. Zhang, X. L. Zhang // *Environmental Technology & Innovation*. – 2021. – V. 23. – 101654. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101654>

575. Kegere, J. Immobilized bacterial cells on electrospun nanofibers for crude oil spills treatment and bioremediation / J. Kegere, A. Alblooshi, H. L. Nguyen, M. A. Alnaqbi // *Chemistry of Nanomaterials for Energy, Biology, and More*. – 2022. <https://doi.org/10.1002/cnma.202200441>

576. Khan, M. K. Simultaneous breaking and conversion of petroleum emulsions into synthetic crude oil with low impurities / M. K. Khan, B. Sarkar, H. Zeb, M. Yi, J. Kim // *Fuel*. – 2017. – V. 199. – P. 135–144.

<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.02.070>

577. Khandelwal, A. Free and immobilized microbial culture–mediated crude oil degradation and microbial diversity changes through taxonomic and functional markers in a sandy loam soil / A. Khandelwal, R. Sugavanam, B. Ramakrishnan, A. Dutta, E. Varghese, L. Nain, T. Banerjee, N. Singh // *Frontiers in Environmental Science*. – 2022. – V. 9. – 794303. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.794303>

578. Khandelwal, A. Integration of third generation biofuels with bio-electrochemical systems: Current status and future perspective / A. Khandewal, M. Chhabra, P. N. Lens // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – V. 14. – 1081108. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1081108>

579. Khatoon, H. Role of fungi in bioremediation of contaminated soil / H. Khatoon, J. P. N. Rai, A. Jillani // *Fungi Bio-Prospects in Sustainable Agriculture, Environment and Nano-Technology. Volume 2: Extremophilic fungi and myco-mediated environmental management* / Ed. by: V. K. Sharma, M. P. Shah, S. Parmar, A. Kumar. – London, UK: Academic Press, 2021. – P. 121–156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821925-6.00007-1>

580. Khokhlov, A. Development of biocarbon sorbent from Corn waste with increased destructive activity in relation to oil / A. Khokhlov, L. Khokhlova // *Technology Audit and Production Reserves*. – 2021. – V. 4, No. 3(60). – P. 21–26. <https://doi.org/10.15587/2706-5448.2021.238342>

581. Kidibule, P. E. Isolation and identification of microorganisms from crude oil contaminated soils of Dar es Salaam, Tanzania / P. E. Kidibule, E. M. Sosovele, A. M. Mshandete // *Biotechnology Journal International*. – 2014. – V. 4, No. 8. – P. 918–931. <https://doi.org/10.9734/BBJ/2014/11780>

582. Kim, H. Highly efficient and recyclable polyolefin-based magnetic sorbent for oils and organic solvents spill cleanup / H. Kim, G. Zhang, M. Wu, J. Guo, C. Nam // *Journal of Hazardous Materials*. – 2021. – V. 419. – 126485. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126485>

583. Kim, O. S. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with phytotypes that represent uncultured species / O. S. Kim, Y. J. Cho, S. H.

Yoon, M. Kim, Y. Na, S. C. Park, Y. S. Jeon, J. H. Lee, H. Yi, S. Won, J. Chun // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2012. – V. 62, Part 3. – P. 716–721. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.038075-0>

584. King, M. D. Effects of petroleum exposure on birds: A review / M. D. King, J. E. Elliott, T. D. Williams // Science of The Total Environment. – 2021. – V. 755, Part 1: 142834. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142834>

585. Klamerus-Iwan, A. Influence of oil contamination on physical and biological properties of forest soil after chainsaw use / A. Klamerus-Iwan, E. Błońska, J. Lasota, A. Kalandyk, P. Waligórski // Water, Air & Soil Pollution. – 2015. – V. 226. – 389. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2649-2>

586. Kleindienst, S. Chemical dispersants can suppress the activity of natural oil-degrading microorganisms / S. Kleindienst, M. Seidel, K. Ziervogel, S. Grim, K. Loftis, S. Harrison, S. Y. Malkin, M. J. Perkins, J. Field, M. L. Sogin, T. Dittmar, U. Passow, P. M. Medeiros, S. B. Joye // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2015. – V. 112, No. 48. – P. 14900–14905. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507380112>

587. Know, S. W. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsongensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea / S. W. Know, J. S. Kim, I. C. Park, S. H. Yoon, D. H. Park, C. K. Lim, S. J. Go // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2003. – V. 53, Part 1. – P. 21–27. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02326-0>

588. Kolesnikov, I. M. Mathematical modeling of the catalytic cracking of oil sludge that has been subjected to electromagnetic activation / I. M. Kolesnikov, V. I. Frolov, K. K. Borzaev, A. P. Glotov, S. V. Kardashev // Chemistry and Technology of Fuels and Oils. – 2016. – Vol. 51. – P. 663–672. <https://doi.org/10.1007/s10553-016-0656-7>

589. Koolivand, A. Biodegradation of high concentrations of petroleum compounds by using indigenous bacteria isolated from petroleum hydrocarbons-rich sludge: effective scale-up from liquid medium to composting process / A. Koolivand, H. Abtahi, M. Parhamfar, M. Didehdar, R. Saeedi, S. Fahimirad // Journal of

Environmental Management. – 2019. – V. 248. – 109228.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.129>

590. Koolivand, A. Bioremediation of storage tank bottom sludge by using a two-stage composting system: effect of mixing ratio and nutrients addition / A. Koolivand, M. S. Rajaei, M. J. Ghanadzadeh, R. Saeedi, H. Abtahi, K. Godini // Bioresource Technology. – 2017. – Vol. 235. – P. 240–249.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.100>

591. Koppolu, V. Role of *Escherichia coli* in biofuel production // V. Koppolu, V. K. Vasigala // Microbiology Insights. – 2016. – V. 9. – P. 29–35.
<https://doi.org/10.4137/MBI.S10878>

592. Kosaric, N. Biosurfactants: Production and utilization – processes, technologies and economics / Ed. by N. Kosaric, F. V. Sukan. – Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2014. – 389 p. <https://doi.org/10.1201/b17599>

593. Koshlaf, E. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments / E. Koshlaf, A. S. Ball // AIMS Microbiology. – 2017. – V. 3, No. 1. – P. 25–49. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.1.25>

594. Kovačević, D. Sustainable non-woven sorbents based on jute post-industrial waste for cleaning of oil spills / A. Kovačević, D. Marković, M. Radoičić, Z. Šaponjić, M. Radetić // Journal of Cleaner Production. – 2023. – V. 386. – 135811.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135811>

595. Kozlova, E. N. The influence of bacterial-humus preparations on the biological activity of soils polluted with oil products and heavy metals / E. N. Kozlova, A. L. Stepanov, L. V. Lysak // Eurasian Soil Science. – 2015. – V. 48. – P. 400–409.
<https://doi.org/10.1134/S1064229315020052>

596. Kügler, J. H. Extracellular aromatic biosurfactant produced by *Tsukamurella pseudospumae* and *T. spumae* during growth on *n*-hexadecane / J. H. Kügler, A. Kraft, S. Heißler, C. Muhle-Goll, B. Luy, W. Schwack, C. Syldatk, R. Hausmann // Journal of Biotechnology. – 2015. – V. 211. – P. 107–114.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.424>

597. Kumar, M. Remediation of soils and sediments polluted with polycyclic

aromatic hydrocarbons: To immobilize, mobilize, or degrade? / M. Kumar, N. S. Bolan, S. A. Hoang, A. D. Sawarkar, T. Jasemizad, B. Gao, S. Keerthanan, L. P. Padhye, L. Singh, S. Kumar, M. Vithanage, Y. Li, M. Zhang, M. B. Kirkham, A. Vinuk, J. Rinklebe // *Journal of Hazardous Materials*. – 2021. – V. 420. – 126534. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126534>

598. Kurbatova, S. M. Cultivation of biocultures for the purpose of their use for cleaning soils from oil pollution / S. M. Kurbatova, L. Yu. Aisner, A. G. Rusakov, A. A. Rusakov // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2020. – V. 941. – 012004. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/941/1/012004>

599. Langangen, Ø. The effects of oil spills on marine fish: Implications of spatial variation in natural mortality / Ø. Langangen, E. Olsen, L. C. Stige, J. Ohlberger, N. A. Yaragina, F. B. Vikebø, B. Bogstad, N. C. Stenseth, D. Ø. Hjermann // *Marine Pollution Bulletin*. – 2017. – V. 119, No. 1. – P. 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.037>

600. Lapuerta, M. Properties of fatty acid glycerol formal ester (FAGE) for use as a component in blends for diesel engines / M. Lapuerta, J. Rodríguez-Fernández, C. Estevez, N. Bayarri // *Biomass and Bioenergy*. – 2015. – V. 76. – P. 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.03.008>

601. Laraib, N. Recent advancements in microalgal-induced remediation of wastewaters / N. Laraib, A. Hussain, A. Javid, M. Hafeez-ur-Rehman, S. M. Bukhari, M. Rashid, W. Ali // *Microorganisms for Sustainable Environment and Health* / P. Chowdhary, A. Raj, D. Verma, Y. Akhter (Eds.). – Amsterdam, Netherlands: Elsevier Inc., 2020. – P. 209. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819001-2.00010-3>

602. Ławniczak, Ł. Microbial degradation of hydrocarbons – basic principles for bioremediation: a review // Ł. Ławniczak, M. Woźniak-Karczewska, A. P. Loibner, H. J. Heipieper, Ł. Chrzanowski // *Molecules*. – 2020. – V. 25, No. 4. – 856. <https://doi.org/10.3390/molecules25040856>

603. Le, V. V. A remarkable review of the effect of lockdowns during COVID-19 pandemic on global PM emissions / V. V. Le, T. T. Huynh, A. Ölçer, A. T. Hoang, A. T. Le, S. K. Nayak, V. V. Pham // *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization,*

and Environmental Effects. – 2020. <https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1853854>

604. Lee, D. W. Biosurfactant-assisted bioremediation of crude oil by indigenous bacteria isolated from Taean beach sediment / D. W. Lee, H. Lee, B. O. Kwon, J. S. Khim, U. H. Yim, B. S. Kim, J. J. Kim // *Environmental Pollution*. – 2018. – 241. – P. 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.070>

605. Lee, S. H. Effect of soil water content on heavy mineral oil biodegradation in soil / S. H. Lee, W. Ji, D. M. Kang, M. S. Kim // *Journal of Soils & Sediments*. – 2018. – V. 18. – P. 983–991. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1849-3>

606. Lee, S. H. Use of soil enzymes as indicators for contaminated soil monitoring and sustainable management / S. H. Lee, M. S. Kim, J. G. Kim, S. O. Kim // *Sustainability*. – 2020. – V. 12, No. 19. – 8209. <https://doi.org/10.3390/su12198209>

607. Lee, S. M. Synthesis of environment friendly nonionic surfactants from sugar base and characterization of interfacial properties for detergent application / S. M. Lee, J. Y. Lee, H. P. Yu, J. C. Lim // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. – 2016. – V. 38. – P. 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.04.019>

608. Lehusto, R. F. Aquatic toxicity of transformed and product-released engineered nanomaterials: An overview of the current state of knowledge / R. F. Lehtso, Y. Tancu, A. Maity, M. Thwala // *Process Safety and Environmental Protection*. – 2020. – Vol. 138. – P. 39–56. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.03.002>

609. Leiva-Candia, D. E. New frontiers in the production of biodiesel: biodiesel derived from macro and microorganisms / D. E. Leiva-Candia, M. P. Dorado // *Liquid biofuels: emergence, development and prospects* / Ed. by A. Domingos, P. M. Silveira dos Santos, O. Inácio, B. Santos, D. Borenstein. – London: Springer, 2014. – P. 205–225. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-6482-1_11

610. Li, J. Autochthonous bioaugmentation-modified bacterial diversity of phenanthrene degraders in PAH-contaminated wastewater as revealed by DNA-stable isotope probing / J. Li, C. Luo, D. Zhang, M. Song, X. Cai, L. Jiang, G. Zhang // *Environmental Science & Technology*. – 2018. – V. 52. – P. 2934–2944. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05646>

611. Liao, C. Accumulation of hydrocarbons by Maize (*Zea mays* L.) in

remediation of soils contaminated with crude oil / Ch. Liao, W. Xu, G. Lu, X. Liang, C. Guo, C. Yang, Z. Dang // *International Journal of Phytoremediation*. – 2015. – V. 17, No. 3. – P. 693–700. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.964840>

612. Liao, J. Q. Bacterial community features are shaped by geographic location, physicochemical properties, and oil contamination of soil in main oil fields of China / J. Q. Liao, J. Wang, Y. Huang // *Microbial Ecology*. – 2015a. – V. 70. – P. 380–389. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0572-0>

613. Liao, J. Q. Long-term oil contamination causes similar changes in microbial communities of two distinct soils / J. Q. Liao, J. Wang, D. L. Jiang, M. C. Wang, Y. Huang // *Applied Microbiology & Biotechnology*. – 2015b. – V. 99. – P. 10299–10310. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6880-y>

614. Lichts, F. O. Ethanol dominates 2018 biofuel investments / F.O. Lichts // *World ethanol and biofuel report*. GmbH. – 2015. – V. 16, No. 12. – P. 236–239.

615. Lifshits, S. Effect of oil pollution on the ecological condition of soils and bottom sediments of the arctic region (Yakutia) / S. Lifshits, Y. Glyaznetsova, L. Erofeevskaya, O. Chalaya, I. Zueva // *Environmental Pollution*. – 2021. – V. 288. – 117680. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117680>

616. Lin, B. Co-pyrolysis of oily sludge and rice husk for improving pyrolysis oil quality / B. Lin, Q. Huang, Y. Chi // *Fuel Processing Technology*. – 2018. – V. 177. – P. 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.05.002>

617. Ling, H. Surfactant-enhanced bioremediation of petroleum-contaminated soil and microbial community response: A field study / H. Ling, J. Hou, M. Du, Y. Zhang, W. Liu, P. Christie, Y. Luo // *Chemosphere*. – 2023. – V. 322. – 138225. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138225>

618. *Liquid Petroleum Products – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) for Use in Diesel Engines and Heating Applications – Requirements and Test Methods; EN 14214*. – London, UK: BSI Group, 2012.

619. Little, D. I. A perspective on oil spills: What we should have learned about global warming / D. I. Little, S. R. J. Sheppard, D. Hulme // *Ocean & Coastal*

Management. – 2021. – V. 202. – 105509.

<https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2020.105509>

620. Liu, J. A review of the interfacial stability mechanism of aging oily sludge: Heavy components, inorganic particles, and their synergism / J. Liu, Y. Zhang, K. Peng, X. Zhao, Y. Xiong, X. Huang // *Journal of Hazardous Materials*. – 2021. – V. 415. – 125624. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125624>

621. Liu, Q. A novel chitosan-biochar immobilized microorganism strategy to enhance bioremediation of crude oil in soil / Q. Liu, Y. Wang, S. Sun, F. Tang, H. Chen, S. Chen, C. Zhao, L. Li // *Chemosphere*. – 2023. – V. 313. – 137367. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137367>

622. Liu, Q. Aerobic degradation of crude oil by microorganisms in soils from four geographic regions of China / Q. Liu, J. Tang, K. Gao // *Scientific Reports*. – 2017. – V. 7. – 14856. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14032-5>

623. Liu, Q. Enhanced crude oil degradation by remodeling of crude oil-contaminated soil microbial community structure using sodium alginate/graphene oxide/*Bacillus* C5 immobilized pellets / Q. Liu, H. Chen, Y. Su, S. Sun, C. Zhao, X. Zhang, Y. Gu, L. Li. // *Environmental Research*. – 2023. – V. 223. – 115465. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115465>

624. Liu, Y. Biodegradation of *n*-alkanes in crude oil by three identified bacterial strains / Y. Liu, Y. Y. Wan, C. Wang, Z. Ma, X. Liu, S. Li // *Fuel*. – 2020. – V. 275. – 117897. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117897>

625. Liu, Y. Effect of rhamnolipid solubilization on hexadecane bioavailability: Enhancement or reduction? / Y. Liu, G. Zeng, H. Zhong, Z. Wang, Z. Liu, M. Cheng, G. Liu, X. Yang, S. Liu // *Journal of Hazardous Materials*. – 2017. – V. 322. – P. 394–401. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.10.025>

626. López, J. R. *Pseudomonas baetica* sp. nov., a fish pathogen isolated from wedge sole, *Dicologlossa cuneata* (Moreau) / J. R. López, A. L. Diéguez, A. Doce, E. De la Roca, R. De la Herran, J. I. Navas, A. E. Toranzo, J. L. Romalde // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2012. – V. 62, Part 4. – P. 874–882. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.030601-0>

627. López, N. I. *Pseudomonas extremaustralis* sp. nov., a poly(3-hydroxybutyrate) producer isolated from an Antarctic environment / N. I. López M. J. Pettinari, E. Stackebrandt, P. M. Tribelli, M. Pötter, A. Steinbüchel, B. S. Méndez // *Current Microbiology*. – 2009. – V. 59, No. 5. – P. 514–519. <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9469-9>
628. Lu, L. Shift of soil polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) dissipation pattern and microbial community composition due to rhamnolipid supplementation / L. Lu, J. Zhang, C. Peng // *Water, Air, & Soil Pollution*. – 2019. – V. 230. – P. 1–14. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4118-9>
629. Luo, X. Research on mechanism and characteristics of oil recovery from oily sludge in ultrasonic fields / X. Luo, H. Gong, Z. He, P. Zhang, L. He // *Journal of Hazardous Materials*. – 2020. – V. 399. – P. 123137. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123137>
630. Ma, Z. Rhamnolipid influences biosorption and biodegradation of phenanthrene by phenanthrene-degrading strain *Pseudomonas* sp. Ph6 / Z. Ma, J. Liu, R. P. Dick, H. Li, D. Shen, Y. Gao, M.G. Waigi, W. Ling // *Environmental Pollution*. – 2018. – V. 240. – P. 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.125>
631. Macdonald, E. Novel ecosystems: A bridging concept for the consilience of cultural landscape conservation and ecological restoration / E. Macdonald, E. G. King // *Landscape and Urban Planning*. – 2018. – V. 177. – P. 148–159. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2018.04.015>
632. Mahdavi, H. *In situ* biodegradation of naphthenic acids in oil sands tailings pond water using indigenous algae-bacteria consortium / H. Mahdavi, V. Prasad, Y. Liu, A. C. Ulrich // *Bioresource Technology*. – 2015. – V. 187. P. 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.091>
633. Maniyam M. N. Decolourization and biodegradation of azo dye methyl red by *Rhodococcus* strain UCC 0016 / M. N. Maniyam, A. L. Ibrahim, A. E. G. Cass // *Environmental technology*. – 2020. – V. 41, No. 1. – P. 71–85. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1491634>

634. Maniyam, M. N. Immobilized cells of *Rhodococcus strain* UCC 0004 as source of green biocatalyst for decolourization and biodegradation of methyl orange / M. N. Maniyam, N. S. Yaacob, H. H. Azman, A. N. A. Ghaffar, H. Abdullah // Biocatalysis and agricultural biotechnology. – 2018. – V. 16. – P. 569–578. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.10.008>
635. Mao, X. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: a review / X. Mao, R. Jiang, W. Xiao, J. J. Yu // Journal of Hazardous Materials. – 2015. – V. 285. – P. 419–435. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.009>
636. Mapelli, F. Biotechnologies for marine oil spill cleanup: indissoluble ties with microorganisms / F. Mapelli, A. Scoma, G. Michoud, F. Aulenta, N. Boon, S. Borin, N. Kalogerakis, D. Daffonchio // Trends in Biotechnology. – 2017. – V. 35, No. 9. – P. 860–870. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.04.003>
637. Marajan, C. The effect of incubation time, temperature and pH variations on the surface tension of biosurfactant produced by *Bacillus* spp. / C. Marajan, S. Alias, K. Ramasamy, S. Abdul-Talib // AIP Conference Proceedings. – 2020. – 020047. <https://doi.org/10.1063/1.5062673>
638. Marchant, R. Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants? / R. Marchant, I. M. Banat // Biotechnology Letters. – 2012. – V. 34, No. 9. – P. 1597–1605. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-0956-x>
639. Margesin, R. Low-temperature biodegradation of petroleum hydrocarbons (*n*-alkanes, phenol, anthracene, pyrene) by four actinobacterial strains / R. Margesin, C. Moertelmaier, J. Mair // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2013. – V. 84. – P. 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.05.004>
640. Martins, S. C. S. Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater / S. C. S. Martins, C. M. Martins, L. M. C. C. Fiúza, S. T. Santaella // African Journal of Biotechnology. – 2013. – V. 12, No. 28. – P. 4412–4418. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2677>
641. Maslennikova, L. L. The use of oil-contaminated crushed stone screenings in construction ceramics / L. L. Maslennikova, M. S. Abu-Khasan, N. A. Babak // Procedia Engineering. – 2017. – V. 189. – P. 59–64.

<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.05.010>

642. Mathew, G. M. Recent advances in biodiesel production: Challenges and solutions / G. M. Mathew, D. Raina, V. Narisetty, V. Kumar, S. Saran, A. Pugazhendi, R. Sindhu, A. Pandey, P. Binod // *Science of The Total Environment*. – 2021. – V. 794. – 148751. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148751>

643. Matvyeyeva, O. L. Microbial biosurfactants role in oil products biodegradation // O. L. Matvyeyeva, O. A. Vasylychenko, O. R. Aliieva // *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. – 2014. – V. 2, No. 2. – P. 69–74. <https://doi.org/10.12691/ijebb-2-2-4>

644. Mbachu, A. E. Isolation and characterization of hydrocarbon degrading fungi from used (spent) engine oil polluted soil and their use for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation / A. E. Mbachu, E. I. Chukwura, N. A. Mbachu // *Universal Journal of Microbiology Research*. – 2016. – V. 4, No. 1. – P. 31–37. <https://doi.org/10.13189/ujmr.2016.040105>

645. Medina, R. Remediation of a soil chronically contaminated with hydrocarbons through persulfate oxidation and bioremediation / R. Medina, P. M. D. Gara, A. J. Fernández-González, J. A. Rosso, M. T. Del Panno // *Science of The Total Environment*. – 2018. – Vol. 618. – P. 518–530. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.326>

646. Melekhina, E. N. Secondary successions of biota in oil-polluted peat soil upon different biological remediation methods / E. N. Melekhina, M. Y. Markarova, T. N. Shchemelinina, E. M. Anchugova, V. A. Kanev // *Eurasian Soil Science*. – 2015. – V. 48. – P. 643–653. <https://doi.org/10.1134/S1064229315060071>

647. Memon, A. M. Physicochemical, rheological and morphological properties of bitumen incorporating petroleum sludge / A. M. Memon, M. H. Sutanto, M. Napiah, N. I. M. Yusoff, R. A. Memon, A. M. Al-Sabaei, M. Ali // *Construction and Building Materials*. – 2021. – V. 297. – 123738. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.123738>

648. Méndez García, M. A review on the enzymes and metabolites identified by mass spectrometry from bacteria and microalgae involved in the degradation of high

molecular weight PAHs / M. Méndez García, M. P. García de Llasera // Science of The Total Environment. – 2021. – V. 797. – 149035.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149035>

649. Microbial Action on Hydrocarbons / Ed. by L. S. Khudur, E. Shahsavari, A. Aburto-Medina, A. S. Ball. – Singapore: Springer, 2018, – P. 643–667.

<https://doi.org/10.1007/978-981-13-1840-5>

650. Migula, W. Uber ein neues System der Bakterien / W. Migula // Arb Bakteriol Inst Karlsruhe. – 1894. – V. 1. – P. 235–238. [in German].

651. Minai-Tehrani, D. Assessment of bioremediation of aliphatic, aromatic, resin, and asphaltene fractions of oil-sludge-contaminated soil / D. Minai-Tehrani, P. Rohanifar, S. Azami // International Journal of Environmental Science and Technology. – 2015. – V. 12, No. 4. – P. 1253–1260.

<https://doi.org/10.1007/s13762-014-0720-y>

652. Mindorff, L. M. Isotopic and microbial evidence for biodegradation of diluted bitumen in the unsaturated zone / L. M. Mindorff, N. Mahmoudi, S. L. J. Hepditch, V. S. Langlois, S. Alam, R. Martel, J. M. E. Ahad // Environmental Pollution. – 2023. – V. 322. – 121170.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121170>

653. Mnif, I. Treatment of diesel- and kerosene-contaminated water by *B. subtilis* SPB1 biosurfactant-producing strain / I. Mnif, S. Ellouze-Chaabouni, Y. Ayedi, D. Ghribi // Water Environment Research. – 2014. – V. 86, No. 8. – P. 707–716.

<https://doi.org/10.2175/106143014x13975035525780>

654. Moeskops, B. Soil microbial communities and activities under intensive organic and conventional vegetable farming in West Java, Indonesia / B. Moeskops, D. Buchan, S. Sleutel, L. Herawaty, E. Husen, R. Saraswati, D. Setyorini, S. De Neve // Applied Soil Ecology. – 2010. – V. 45, No. 2. – P. 112–120.

655. Mohd Noor, C. W. Biodiesel as alternative fuel for marine diesel engine applications: A review / C. W. Mohd Noor, M. M. Noor, R. Mamat // Renewable & Sustainable Energy Reviews. – 2018. – V. 94. – P. 127–142.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.031>

656. Moon, J. Plant-microbial and mineral contributions to amino acid and protein organic matter accumulation during 4000 years of pedogenesis / J. Moon,

L. Ma, K. Xia, M. A. Williams // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2016. – V. 100. – P. 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.05.011>

657. Motevali, N. Investigating centrifuging conditions for sustainable recovery of fuel from oily sludge : a thesis ... M. A. Sc. : Building, Civil and Environmental Engineering / Nazanin Motevali. – Montreal, Quebec, Canada: Concordia University, 2020. – 103 p.

658. Moussa, L. A. Identification and characterization of biosurfactants produced by *Rhodococcus equi* and *Bacillus methyotrophicus* / L. A. Moussa, A. Z. Abdel Azeiz // *Journal of Biological Chemistry and Environmental Sciences*. – 2013. – V. 8, No. 2. – P. 341–358.

659. Muir, D. C. G. Polycyclic aromatic compounds (PACs) in the Canadian environment: Links to global change / D. C. G. Muir, E. Galarneau // *Environmental pollution*. – 2021. – Vol. 273. – 116425. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116425>

660. Mulligan, C. N. Sustainable remediation of contaminated soil using biosurfactants / C. N. Mulligan // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2021. – V. 9. – 635196. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.635196>

661. Mulligan, C. N. Biosurfactants: Research trends and applications / C. N. Mulligan, S. K. Sharma, A. Mudhoo (Eds.). – Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2014. – 352 p. <https://doi.org/10.1201/b16383>

662. Muratova, A. Yu. Remediating abilities of different plant species grown in diesel-fuel-contaminated leached chernozem / A. Yu. Muratova, S. N. Golubev, E. V. Dubrovskaya, N. N. Pozdnyakova, L. V. Panchenko, E. V. Pleshakova, M. P. Chernyshova, O. V. Turkovskaya // *Applied Soil Ecology*. – 2012. – V. 56. – P. 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.01.002>

663. Murawski, S. A. Prevalence of external skin lesions and polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in Gulf of Mexico fishes, post Deepwater Horizon / S. A. Murawski, W. T. Hogarth, G. M. Peebles, L. Barbeiri // *Transactions of the American Fisheries Society*. – 2014. – V. 143, No. 4. – P. 1084–1097. <https://doi.org/10.1080/00028487.2014.911205>

664. Muthukumar, B. Influence of bioaugmentation in crude oil contaminated

soil by *Pseudomonas* species on the removal of total petroleum hydrocarbon / B. Muthukumar, S. Surya, K. Sivakumar, M. S. AlSalhi, T. N. Rao, P. Arunkumar, A. Rajasekar // *Chemosphere*. – 2023. – V. 310. – 136826. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136826>

665. Myazin, V. A. The effectiveness of biostimulation, bioaugmentation and sorption-biological treatment of soil contaminated with petroleum products in the Russian subarctic / V. A. Myazin, M. V. Korneykova, A. A. Chaporgina, N. V. Fokina, G. K. Vasilyeva // *Microorganisms*. – 2021. – V. 9. – No. 8. – P. 1722. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081722>

666. Nannipieri, P. The chemical and functional characterization of soil N and its biotic components / P. Nannipieri, P. Eldor // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2009. – V. 41, No. 12. – P. 2357–2369. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.07.013>

667. National Primary Drinking Water Regulations. Environmental Protection Agency (US EPA) [online]. – 2000. – URL: <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>

668. Nazari, M. T. *Rhodococcus*: A promising genus of actinomycetes for the bioremediation of organic and inorganic contaminants / M. T. Nazari, V. Simon, B. S. Machado, L. Crestani, G. Marchezi, G. Concolato, V. Ferrari, L. M. Colla, J. S. Piccin // *Journal of Environmental Management*. – 2022. – V. 323. – 116220. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116220>

669. Nechepurenko, I. Russia declares emergency after Arctic oil spill / I. Nechepurenko // *The New York Times*. – 2020. – June, 4. – URL: <https://www.nytimes.com/2020/06/04/world/europe/russia-oil-spill-arctic.html>

670. Nedoroda, V. Analysis of petroleum biodegradation by a bacterial consortium of *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* and *Bacillus subtilis* / V. Nedoroda, G. Trokhymenko, T. Khrapko, A. Koliehova // *Journal of Ecological Engineering*. – 2021. – V. 22, No. 11. – P. 36–42. <https://doi.org/10.12911/22998993/143017>

671. Nemergut, D. R. Structure and function of alpine and arctic soil microbial communities / D. R. Nemergut, E. K. Costello, A. F. Meyer, M. Y. Pescador, M. N.

Weintraub, S. K. Schmidt // *Research in Microbiology*. – 2005. – V. 156, No. 7. – P. 775–784. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.03.004>

672. Nie, H. Immobilization of *Rhodococcus qingshengii* strain FF on the surface of polyethylene and its adsorption and biodegradation of mimic produced water / H. Nie, M. Nie, Z. Diwu, L. Wang, H. Yan, X. Bai // *Journal of Hazardous Materials*. – 2021. – V. 403. – 124075. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.12407>

673. Nwaguma, I. V. Isolation, characterization, and application of a biosurfactant by a *Klebsiella pneumoniae* ivn51 strain isolated from hydrocarbon-contaminated soil in Ogoniland, Nigeria / I. V. Nwaguma, C. B. Chikere, G. C. Okpokwasili // *Bioresources & Bioprocessing*. – 2016. – V. 3, No. 40. <https://doi.org/10.1186/s40643-016-0118-4>

674. Oluremi, J. R. Compaction characteristics of oil contaminated residual soil / J. R. Oluremi, A. P. Adewuyi, A. A. Sanni // *Journal of Engineering and Technology*. – 2015. – V. 6, No. 2. – P. 75–87.

675. Omar, B. M. Wheat husk-based sorbent as an economical solution for removal of oil spills from sea water / B. M. Omar, S. A. Abdelgalil, H. Fakhry, T. M. Tamer, M. A. El-Sonbati // *Scientific Reports*. – 2023. – V. 13. – 2575. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29035-8>

676. Ortega, M. F. Optimization of landfarming amendments based on soil texture and crude oil concentration / M. F. Ortega, D. E. Guerrero, M. J. García-Martínez, D. Bolonio, J. F. Llamas, L. Canoira, J. L. R. Gallego // *Water, Air & Soil Pollution*. – 2018. – V. 229. – 234. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3891-1>

677. Ossai, I. C. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review / I. C. Ossai, A. Ahmed, A. Hassan, F. S. Hamid // *Environmental Technology & Innovation*. – 2020. – V. 17. – 100526. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100526>

678. Oualha, M. Identification and overcome of limitations of weathered oil hydrocarbons bioremediation by an adapted *Bacillus sorensis* strain / M. Oualha, N. Al-Kaabi, M. Al-Ghouti, N. Zouari // *Journal of Environmental Management*. – 2019. – V. 250. – 109455. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109455>

679. Ozerskaya, S. M. The structure of micromycete complexes in permafrost and cryopegs of the Arctic / S. M. Ozerskaya, G. A. Kochkina, N. E. Ivanushkina, E. V. Knyazeva, D. A. Gilichinskii // *Microbiology*. – 2008. – V. 77. – P. 482–489. <https://doi.org/10.1134/S0026261708040152>
680. Pacwa-Płociniczak, M. The effect of bioaugmentation of petroleum-contaminated soil with *Rhodococcus erythropolis* strains on removal of petroleum from soil / M. Pacwa-Płociniczak, J. Czapla, T. Płociniczak, Z. Piotrowska-Seget // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2019. – V. 169. – P. 615–622. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.081>
681. Pape, A. Impacts of thermal and smouldering remediation on plant growth and soil ecology / A. Pape, C. Switzer, N. McCosh, C. W. Knapp // *Geoderma*. – 2015. – V. 243–244. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.12.004>
682. Park, H. S. Strategies for sustainable development of industrial park in Ulsan, South Korea – from spontaneous evolution to systematic expansion of industrial symbiosis / H. S. Park, E. R. Rene, S. M. Choi, A. S. F. Chiu // *Journal of Environmental Management*. – 2008. – V. 87, No. 1. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2006.12.045>
683. Park, Y.- D. *Pseudomonas panacis* sp. nov., isolated from the surface of rusty roots of Korean ginseng / Y.- D. Park, H. B. Lee, H. Yi, Y. Kim, K. S. Bae, J.- E. Choi, H. S Jung, J. Chun // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2005. – V. 55, Part 4. – P. 1721–1724. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63592-0>
684. Perea-Moreno, A. J. Mango stone properties as biofuel and its potential for reducing CO₂ emissions / A. J. Perea-Moreno, M. A. Perea-Moreno, M. P. Dorado, F. Manzano-Agugliario // *Journal of Cleaner Production* – 2018. – V. 190. – P. 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.04.147>
685. Pessôa, M. G. Newly isolated microorganisms with potential application in biotechnology / M. G. Pessôa, K. A. C. Vespermann, B. N. Paulino, M. C. S. Barcelos, G. M. Pastore, G. Molina // *Biotechnology Advances*. – 2019. – V. 37, No. 2. – P. 319–339. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.01.007>

686. Pinzi, S. Castor oil enhanced effect on fuel ethanol-diesel fuel blend properties / S. Pinzi, I. López, D. E. Leiva-Candia, M. D. Redel-Macías, J. M. Herreros, A. Cubero-Atienza, M. P. Dorado // *Applied Energy*. – 2018. – V. 224. – P. 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.05.024>
687. Pirog, T. P. Microbial surfactants in environmental technologies / T. P. Pirog, A. D. Konon, I. V. Savenko // *Biotechnologia Acta*. – 2015. – V. 8, No. 4. – P. 21–39. <https://doi.org/10.15407/biotech8.04.021>
688. Polinov, S. Spatial and temporal assessment of oil spills in the Mediterranean Sea / S. Polinov, R. Bookman, N. Levin // *Marine Pollution Bulletin*. – 2021. – V. 167. – 112338. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112338>
689. Polyak, Y. M. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil – A field study / Y. M. Polyak, L. G. Bakina, M. V. Chugunova, N. V. Mayachkina, A. O. Gerasimov, V. M. Bure // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2018. – V. 126. – P. 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.004>
690. Prabha, J. Opportunities and challenges of utilizing energy crops in phytoremediation of environmental pollutants: A review / J. Prabha, M. Kumar, R. Tripathi // *Bioremediation for environmental sustainability: approaches to tackle pollution for cleaner and greener society* / V. Kumar, G. Saxena, M. P. Shah (Eds.). – Oxford, UK: Elsevier, 2021. – P. 383–396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820318-7.00017-4>
691. Puasa, N. A. Oil palm's empty fruit bunch as a sorbent material in filter system for oil-spill clean up / N. A. Puasa, S. A. Ahmad, N. N. Zakaria, K. A. Khalil, S. H. Taufik, A. Zulkharnain, A. A. Azmi, C. Gomez-Fuentes, C.- Y. Wong, N. A. Shaharuddin // *Plants*. – 2022. – V. 11, No. 1. – 127. <https://doi.org/10.3390/plants11010127>
692. Purwasena, I. A. Stability test of biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* DS1 using experimental design and its application for MEOR / I. A. Purwasena, D. I. Astuti, M. Syukron, M. Amaniyah, Y. Sugai // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. – 2019. – V. 183. – 106383.

<https://doi.org/10.1016/j.petro.2019.106383>

693. Quintella, C. M. Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils / C. M. Quintella, A. M. T. Mata, L. C. P. Lima // *Journal of Environmental Management*. – 2019. – V. 241. – P. 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.019>

694. Radice, R. P. Crude oil bioremediation: from bacteria to microalgae / R. P. Radice, V. De Fabrizio, A. Donadoni, A. Scopa, G. Martelli // *Processes*. – 2023. – V. 11. – 442. <https://doi.org/10.3390/pr11020442>

695. Rafikova, G. F. Influence of bioremediation on the biological activity of leached chernozem contaminated with oil and lead / G. F. Rafikova, E. V. Kuzina, T. Y. Korshunova // *Eurasian Soil Science*. – 2022. – V. 55. – P. 363–376. <https://doi.org/10.1134/S1064229322030127>

696. Rahman, A. A Review of algae-based produced water treatment for biomass and biofuel production / A. Rahman, S. Agrawal, T. Nawaz, S. Pan, T. Selvaratnam // *Water*. – 2020. – V. 12. – 2351. <https://doi.org/10.3390/w12092351>

697. Rahman, P. K. S. M. Biosurfactants and bioemulsifiers from marine algae / P. K. Rahman, A. Mayat, J. G. H. Harvey, K. S. Randhawa, , L. E. Relph, M. C. Armstrong // *The role of microalgae in wastewater treatment*. – 2019. – P. 169–188. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1586-2_13

698. Rajamohan, S. Evaluation of oxidation stability and engine behaviors operated by *Prosopis juliflora* biodiesel/diesel fuel blends with presence of synthetic antioxidant / S. Rajamohan, A. H. Gopal, K. R. Muralidharan, Z. Huang, B. Paramasivam, T. Ayyasamy, X. P. Nguyen, A. T. Le, A. T. Hoang // *Sustainable Energy Technologies and Assessments*. – 2022. – V. 52, Part 1. – 102086. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2022.102086>

699. Ramadass, K. Bioavailability of weathered hydrocarbons in engine oil-contaminated soil: Impact of bioaugmentation mediated by *Pseudomonas* spp. on bioremediation / K. Ramadass, M. Megharaj, K. Venkateswarlu, R. Naidu // *Science of The Total Environment*. – 2018. – V. 636. – P. 968–974. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.379>

700. Ramadass, K. Ecotoxicity of measured concentrations of soil-applied diesel: Effects on earthworm survival, dehydrogenase, urease and nitrification activities / K. Ramadass, M. Megharaj, K. Venkateswarlu, R. Naidu // *Applied Soil Ecology*. – 2017a. – V. 119. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.05.017>
701. Ramadass, K. Toxicity of diesel water accommodated fraction toward microalgae, *Pseudokirchneriella Subcapitata* and *Chlorella* sp. MM3 / K. Ramadass, M. Megharaj, K. Venkateswarlu, R. Naidu // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2017b. – V. 142. – P. 538–543. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.052>
702. Rao, M. A. Enzymes as useful tools for environmental purposes / M. A. Rao, R. Scelza, F. Acevedo, M. C. Diez, L. Gianfreda // *Chemosphere*. – 2014. – V. 107. – P. 145–162. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.059>
703. Rathod, V. P. Effect of bioremediation technique on engineering properties of crude oil-contaminated soil / V. P. Rathod, H. H. Parekh, P. D. Rajpura, M. V. Shah, S. R. Singh, R. R. Panchal, V. J. Upadhye // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. – 2022. – V. 43. – 102393. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102393>
704. Rathore, D. S. Marine actinobacteria: new horizons in bioremediation / D. S. Rathore, M. Sheikh, S. P. Singh // *Recent Developments in Microbial Technologies* / R. Prasad, V. Kumar, J. Singh, C. P. Upadhyaya (Eds.). – Singapore: Springer Singapore, 2021. – P. 425–449. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4439-2_20
705. Reddy, G. S. N. Psychrophilic pseudomonads from Antarctica: *Pseudomonas antarctica* sp. nov., *Pseudomonas meridiana* sp. nov. and *Pseudomonas proteolytica* sp. nov. / G. S. N. Reddy, G. I. Matsumoto, P. Schumann, E. Stackebrandt, S. Shivaji // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2004. – V. 54. – P. 713–719. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02827-0>
706. Reddy, P. V. Enhanced utilization of fluorene by *Paenibacillus* sp. PRNK-6: Effect of rhamnolipid biosurfactant and synthetic surfactants / P. V. Reddy, T. B. Karegoudar, A. S. Nayak // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2018. – V. 151. – P. 206–211. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.019>
707. Richardson, V. P. S. Physico-chemical characteristic of a petroleum contaminated soil from the spill site of Jaffna District / V. P. S. Richardson, G. B. B.

Herath, C. S. Kalpage , K. B. S. N. Jinadasa // Proceedings of the 6th International Conference on Structural Engineering and Construction Management. – Kandy, Sri Lanka, 2015. – P. 61–65.

708. Riveroll-Larios, J. Biological activity assessment in mexican tropical soils with different hydrocarbon contamination histories / J. Riveroll-Larios, E. Escalante-Espinosa, R.L. Fócil-Monterrubio, I. J. Díaz-Ramírez // Water, Air & Soil Pollution. – 2015. – V. 226. – 353. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2621-1>

709. Rodrigues Reis, C. E. Sugarcane by-products within the biodiesel production chain: Vinasse and molasses as feedstock for oleaginous fungi and conversion to ethyl esters / C. E. Rodrigues Reis, G. F. Valle, H. B. S. Bento, A. K. F. Carvalho, T. M. Alves, H. F. de Castro // Fuel. – 2020. – V. 277. – 118064. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118064>

710. Rodriguez-Campos, J. Bioremediation of soil contaminated by hydrocarbons with the combination of three technologies: bioaugmentation, phytoremediation, and vermiremediation / J. Rodriguez-Campos, A. Perales-Garcia, J. Hernandez-Carballo, F. Martinez-Rabelo, B. Hernández-Castellanos, I. Barois, S. M. Contreras-Ramos // Journal of Soils & Sediments. – 2019. – V. 19. – P. 1981–1994. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-2213-y>

711. Rong, L. Activating soil microbial community using *Bacillus* and rhamnolipid to remediate TPH contaminated soil / L. Rong, X. Zheng, B. Tafa Oba, C. Shen, X. Wang, H. Wang, Q. Luo, L. Sun // Chemosphere. – 2021. – V. 275. – 130062. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130062>

712. Rossello-Mora, R. The species concept for prokaryotes / R. Rossello-Mora, R. Aman // FEMS Microbiology Reviews. – 2001. – V. 25. – P. 39–67. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00571.x>

713. Roy, A. Biostimulation and bioaugmentation of native microbial community accelerated bioremediation of oil refinery sludge / A. Roy, A. Dutta, S. Pal, A. Gupta, J. Sarkar, A. Chatterjee, A. Saha, P. Sarkar, P. Sar, S.K. Kazy // Bioresource Technology. – 2018. – V. 253. – P. 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.004>

714. Rubiyatno. Tolerance of earthworms in soil contaminated with polycyclic

aromatic hydrocarbon / Rubiyatno, Z. C. Teh, D. V. Lestari, A. Yulisa, M. Musa, T.- W. Chen, N. M. Darwish, B. M. AlMunqedhi, T. Hadibarata, // *Industrial & Domestic Waste Management*. – 2022. – V 2, No. 1. – P. 9–16.

<https://doi.org/10.53623/idwm.v2i1.62>

715. Sadatshojaei, E. Third Generation of biofuels exploiting microalgae / E. Sadatshojaei, D. A. Wood, D. Mowla // *Sustainable Green Chemical Processes and their Allied Applications* / Ed. by Inamuddin, A. M Asiri. – Cham: Springer, 2020. – P. 575–588 https://doi.org/10.1007/978-3-030-42284-4_21

716. Safdari, M.- S. Development of bioreactors for comparative study of natural attenuation, biostimulation, and bioaugmentation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil / M.- S. Safdari, H.- R. Kariminia, M. Rahmati, F. Fazlollahi, A. Polasko, S. Mahendra, W. V. Wilding, T. H. Fletcher // *Journal of Hazardous Materials*. – 2018. – V. 342. – P. 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.08.044>

717. Salam, L. B. Metabolism of waste engine oil by *Pseudomonas* species / L. B. Salam // *3 Biotech*. – 2016. – V. 6, No 1. – 98. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0419-5>

718. Saleem, J. Oil sorbents from plastic wastes and polymers: a review / J. Saleem, M. A. Riaz, G. McKay // *Journal of hazardous materials*. – 2018. – V. 341. – P. 424–437. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.072>

719. Salehi, M. Treatment of normal hydrocarbons contaminated water by combined microalgae – Photocatalytic nanoparticles system / M. Salehi, D. Biria, M. Shariati, M. Farhadian // *Journal of Environmental Management*. – 2019. – V. 243. – P. 116–126. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.131>

720. Salimnezhad, A. Effects of oil contamination and bioremediation on geotechnical properties of highly plastic clayey soil / A. Salimnezhad, H. Soltani-Jigheh, A. A. Soorki // *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*. – 2021. – V. 13, No. 3. – P. 653–670. <https://doi.org/10.1016/j.jrmge.2020.11.011>

721. Santos, D. K. F. Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century / D. K. F. Santos, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, L. A. Sarubbo //

International Journal of Molecular Science. – 2016. – V. 17, No. 3. – 401. – <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>

722. Santos, D. K. F. *Candida lipolytica* UCP0988 biosurfactant: potential as a bioremediation agent and in formulating a commercial related product / D. K. F. Santos, A. H. M. Resende, D. G. de Almeida, R. D. C. F. S. Silva, R. D. Rufino, J. M. Luna, I. M. Banat, L. A. Sarubbo // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – V. 8. – 767. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00767>

723. Santos, D. K. F. Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor / D. K. F. Santos, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, A. A. Salgueiro, L. A. Sarubbo // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. – 2013. – V. 105. – P. 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2013.03.028>

724. Saravanan, A. Biodegradation of oil-contaminated aqueous ecosystem using an immobilized fungi biomass and kinetic study / A. Saravanan, S. Karishma, P. S. Kumar, G. Rangasamy // *Environmental Research*. – 2023. – V. 220. – 115252. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115252>

725. Sarubbo, L. A. Some aspects of heavy metals contamination remediation and role of biosurfactants / L. A. Sarubbo, R. B. Rocha Jr, J. M. Luna, R. D. Rufino, V. A. Santos, I. M. Banat // *Chemistry & Ecology*. – 2015. – V. 31, No. 8. – P. 707–723. <https://doi.org/10.1080/02757540.2015.1095293>

726. Saxena, R. Third Generation biorefineries using micro- and macro-algae / R. Saxena, G. Rosero-Chasoy, E. Aparicio, A. Lara, A. Loredó, A. Robledo, E. T. Kostas, R. M. Rodríguez-Jasso, H. A. Ruiz // In: Fang, Z., Smith Jr., R.L., Xu, L. (eds) *Production of Biofuels and Chemicals from Sustainable Recycling of Organic Solid Waste. Biofuels and Biorefineries*. – Singapore: Springer, 2022. – V. 11. – P. 373–411. https://doi.org/10.1007/978-981-16-6162-4_12

727. Selva Filho, A. A. P. Biosurfactants as multifunctional remediation agents of environmental pollutants generated by the petroleum industry / A. A. P. Selva Filho, A. Converti, R. D. C. F. Soares da Silva, L. A. Sarubbo // *Energies*. – 2023. – V. 16, No. 3. – 1209. <https://doi.org/10.3390/en16031209>

728. Sengupta, S. Fuel cycle emissions and life cycle costs of alternative fuel vehicle policy options for the City of Houston municipal fleet / S. Sengupta, D. S. Cohan // *Transportation Research Part D: Transport and Environment*. – 2017. – V. 54. – P. 160–171. <https://doi.org/10.1016/j.trd.2017.04.039>

729. Shah, M. U. H. A binary mixture of a biosurfactant and an ionic liquid surfactant as a green dispersant for oil spill remediation / M. U. H. Shah, M. Moniruzzaman, M. Sivapragasam, M. M. R. Talukder, S. B. Yusup, M. Goto // *Journal of Molecular Liquids*. – 2019. – V. 280. – P. 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.02.049>

730. Shah, N. Biosurfactant: types, detection methods, importance and applications / N. Shah, R. Nikam, S. Gaikwad, V. Sapre, J. Kaur // *Indian Journal of Microbiology Research*. – 2016. – V. 3, No. 1. – P. 5–10.

731. Shalid, M. K. Biofuels and biorefineries: Development, application and future perspectives emphasizing the environmental and economic aspects / M. K. Shahid, A. Batool, A. Kashif, M. H. Nawaz, M. Aslam, N. Iqbal, Y. Choi // *Journal of Environmental Management*. – 2021. – V. 297. – 113268. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113268>

732. Shaoping, K. Changes of sensitive microbial community in oil polluted soil in the coastal area in Shandong, China for ecorestoration / K. Shaoping, D. Zhiwei, W. Bingchen, W. Huihui, L. Jialiang, S. Hongbo // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2021. – V. 207. – 111551. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111551>

733. Sharma, D. Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* DSVP20 isolated from petroleum hydrocarbon-contaminated soil and its physicochemical characterization / D. Sharma, M. Ansari, A. Al-Ghamdi, N. Adgaba, K.A. Khan, V. Pruthi, N. Al-Waili // *Environmental Science & Pollution Research International*. – 2016. – V. 22, No. 22. – P. 17636–17643. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4937-1>

734. Sharma, R. Biosurfactant-aided bioprocessing: industrial applications and environmental impact / R. Sharma, H. S. Oberoi // *Recent advances in applied microbiology* // Ed. by P. Shukla. – Singapore: Springer, 2017. – P. 55–88. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5275-0_3

735. Sharma, S. Hydrophobic surface induced biosorption and microbial ex situ remediation of oil-contaminated sites / S. Sharma, L. M. Pandey // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2021. – Vol. 60, No. 26. – C. 9378–9388. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.1c00974>

736. Shchemelinina, T. Experimental modeling of biogeo sorbents / T. Shchemelinina, O. Kotova, E. Anchugova, D. Shushkov, G. Ignatyev, M. Markarova // *Springer Proceedings in Earth and Environmental Sciences : 14th International Congress for Applied Mineralogy (ICAM2019)*. – 2019. – P. 281–285. https://doi.org/10.1007/978-3-030-22974-0_67

737. Shchemelinina, T. N. Clay- and zeolite-based biogeo sorbents: modelling and properties / T. N. Shchemelinina, L. A. Gömze, O. B. Kotova, J. E. F. M. Ibrahim, D. A. Shushkov, M. Harja, G. V. Ignatiev, E. M. Anchugova // *Építőanyag – Journal of Silicate Based and Composite Materials*. – 2019. – V. 71, No. 4. – P. 131–137. <https://doi.org/10.14382/epitonyag-jsbcm.2019.23>

738. Shchemelinina, T. N. Microfungal strains – potential lipid producers for biodiesel / T. N. Shchemelinina, N. V. Matistov, V. A. Kovaleva, M. Y. Markarova, I. V. Gruzdev, V. V. Volodin, E. M. Anchugova // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2017. – V. 53. – P. 441–447. <https://doi.org/10.1134/S0003683817040135>

739. Shchemelinina, T. N. The analcime-bearing rock immobilized microalgae: Stress resistance, psychrotolerance, phenol removal / T. N. Shchemelinina, E. M. Anchugova, O. B. Kotova, D. A. Shushkov // *Bioresource Technology*. – 2021. – V. 332. – 124560. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124560>

740. Shchemelinina, T. N. Petroleum sludge as a feedstock for the microbial biodiesel production: emerging prospects / T.N. Shchemelinina, E.M. Anchugova, M.Yu. Markarova, K.G. Ufimtsev, I.V. Beshley // *Waste and Biomass Valorization*. – 2022. DOI:10.1007/s12649-022-01894-8.

741. Shen, W. Ecotoxicity monitoring and bioindicator screening of oil-contaminated soil during bioremediation / W. Shen, N. Zhu, J. Cui, H. Wang, Z. Dang, P. Wu, Y. Luo, C. Shi // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2016. – V. 124. – P.

120–128. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.10.005>

742. Shi, L. Effects of oil pollution on soil microbial diversity in the Loess hilly areas, China / L. Shi, Z. Liu, L. Yang, W. Fan // *Annals of Microbiology*. – 2022. – V. 72. – P. 26. <https://doi.org/10.1186/s13213-022-01683-7>

743. Shindell, D. Climate and air-quality benefits of a realistic phase-out of fossil fuels / D. Shindell, C. J. Smith // *Nature*. – 2019. – V. 573. – P. 408–411. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1554-z>

744. Siemaka, O. Studying the efficiency of soil decontamination when using a device with the biosorbent "ECONADIN" / O. Siemaka, Y. Shatokhina, L. Klintsov // *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. – 2018. – P. 49– 55. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2018.147684>

745. Silva, D. S. Production of oil with potential energetic use by catalytic co-pyrolysis of oil sludge from offshore petroleum industry / D. C. Silva, A. A. Silva, C. F. Melo, M. R. C. Marques // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2017. – Vol. 124. – P. 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2017.01.021>

746. Silva, R. D. C. F. C. Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills / R. D. C. F. S. Silva, D. G. Almeida, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, L. A. Sarubbo // *International Journal of Molecular Science* – 2014. – V. 15. – P. 12523–12542. <https://doi.org/10.3390/ijms150712523>

747. Silva-Castro, G. A. Response of autochthonous microbiota of diesel polluted soils to land-farming treatments / G. A. Silva-Castro, I. Uad, A. Rodríguez-Calvo, J. González-López, C. Calvo // *Environmental Research*. – 2015. – V. 137. – P. 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.11.009>

748. Sitepu, E. K. Critical evaluation of process parameters for direct biodiesel production from diverse feedstock / E. K. Sitepu, K. Heimann, C. L. Raston, W. Zhang // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2020. – V. 123. – P. 109762. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109762>

749. Song, Y. Estimating the spatial distribution of soil heavy metals in oil mining area using air quality data / Y. Song, L. Kang, F. Lin, N. Sun, A. Aizezi, Z.

Yang, X. Wu // *Atmospheric Environment*. – 2022. – V. 287. – 119274.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2022.119274>

750. Souza, S. P. Feedstocks for biodiesel production: Brazilian and global perspectives / S. P. Souza, J. E. A. Seabra, L. A. H. Nogueira // *Biofuels*. – 2016. – V. 9, No. 4. – P. 1–24. <https://doi.org/10.1080/17597269.2017.1278931>

751. Stackerbrandt, E. Defining taxonomic ranks / E. Stackerbrandt // *Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. Volume I* / M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, E. Stackebrandt (eds). – New York: Springer, 2006. – P. 29–57.

752. Staninska-Pięta, J. The impact of natural and synthetic surfactants on bacterial community during hydrocarbon biodegradation / J. Staninska-Pięta, A. Piotrowska-Cyplik, W. Juzwa, A. Zgoła-Grześkowiak, Ł. Wolko, Z. Sydow, Ł. Kaczorowski, J. Powierska-Czarny, P. Cyplik // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2019. – V. 142. – P. 191–199.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.05.010>

753. Steinweg, J. M. Microbial responses to multi-factor climate change: effects on soil enzymes / J. M. Steinweg, J. S. Dukes, E. A. Paul, M. D. Wallenstein // *Frontiers in Microbiology*. – 2013. – V. 4. – P. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00146>

754. Subashchandrabose, S. R. Biodegradation of high-molecular weight PAHs by *Rhodococcus wratislaviensis* strain 9: overexpression of amidohydrolase induced by pyrene and BaP / S. R. Subashchandrabose, K. Venkateswarlu, R. Naidu, M. Megharaj // *Science of the Total Environment*. – 2018. – V. 651, Part 1. – P. 813–821.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.192>

755. Sun, W. Microbial communities inhabiting oil-contaminated soils from two major oilfields in Northern China: Implications for active petroleum-degrading capacity / W. Sun, Y. Dong, P. Gao, M. Fu, J. Li // *Journal of Microbiology*. – 2015. – V. 53, No. 6. – P. 371–378. <https://doi.org/10.1007/s12275-015-5023-6>

756. Talebi, A. F. BiodieselAnalyzer: a user-friendly software for predicting the properties of prospective biodiesel / A. F. Talebi, M. Tabatabaei, Y. Chisti // *Biofuel Research Journal*. – 2014. – V. 1. – P. 55–57. <https://doi.org/10.18331/brj2015.1.2.4>

757. Tamura, K. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 / K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, S. Kumar // *Molecular biology and evolution*. – 2013. – V. 30, No. 12. – P. 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
758. Tang, X. Continuous pyrolysis technology for oily sludge treatment in the chain-slap conveyors / X. Tang, X. Wei, S. Chen // *Sustainability*. – 2019. – V. 11, No. 13. – 3614. <https://doi.org/10.3390/su11133614>
759. Tao, K. Response of soil bacterial community to bioaugmentation with a plant residue-immobilized bacterial consortium for crude oil removal / K. Tao, X. Zhang,; X. Chen, X. Liu, X. Hu, X. Yuan // *Chemosphere*. – 2019. – V. 222. – P. 831–838. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.133>
760. Tao, Y. Remediation of Cu-phenanthrene co-contaminated soil by soil washing and subsequent photoelectrochemical process in presence of persulfate / Y. Tao, H. Huang, H. Zhang // *Journal of Hazardous Materials*. – 2020. – V. 400. – 123111. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123111>
761. Tarabukin, D. V. Biosorbents based on esterified starch carrying immobilized oil-degrading microorganisms / D. V. Tarabukin, M. A. Torlopov, T. N. Shchemelinina, E. M. Anchugova, N. N. Shergina, E. I. Istomina, V. A. Belyy // *Journal of Biotechnology*. – V. 260. – 2017. – P. 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.08.024>
762. ten Kate, J. Bio-diesel production using mobile processing units: A case in Indonesia / J. ten Kate, R. Teunter, R. D. Kusumastuti, , D. P. van Donk // *Agricultural Systems*. – 2017. – V. 152. – P. 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2016.12.015>
763. Thavamani, P. Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals / P. Thavamani, S. Malik, M. Beer, M. Megharaj, R. Naidu // *Journal of Environmental Management*. – 2012. – V. 99. – P. 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.12.030>
764. Tian, J. Different forms of nitrogen deposition show variable effects on soil organic nitrogen turnover in a temperate forest / J. Tian, K. Wei, T. Sun, N. Jiang, Z.

Chen, J. Feng, K. Cai, L. Chen // *Applied Soil Ecology*. – 2022. – V. 169. – 104212.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104212>

765. Timling, I. Peeking through a frosty window: molecular insights into the ecology of Arctic soil fungi / I. Timling, D. L. Taylor // *Fungal Ecology*. – 2012. – V. 5, No. 4. – P. 419–429. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.01.009>

766. Tindall, M. J. Overview of mathematical approaches used to model bacterial chemotaxis II: bacterial populations / M. J. Tindall, P. K. Maini, S. L. Porter, J. P. Armitage // *Bulletin of Mathematical Biology*. – 2008. – V. 70. – P. 1570–1607.
<https://doi.org/10.1007/s11538-008-9322-5>

767. Tosheva, L. Rapid screening of the antimicrobial efficacy of Ag zeolites / L. Tosheva, S. Belkhair, M. Gackowski, S. Malic, N. Al-Shanti, J. Verran // *Colloids and surfaces B: biointerfaces*. – 2017. – V. 157. – P. 254–260.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.06.001>

768. Trudgeon, B. Low-temperature biosurfactants from polar microbes / B. Trudgeon, M. Dieser, N. Balasubramanian, M. Messmer, C. M. Foreman // *Microorganisms*. – 2020. – V. 8, No. 8. – 1183.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8081183>

769. Truskewycz, A. Petroleum Hydrocarbon Contamination in Terrestrial Ecosystems—Fate and Microbial Response / A. Truskewycz, D. G. Taylor, S. K. Leadin, A. Kolobaric, M. Taha, A. Aburto-Medina, A. S. Ball, E. Shahsavari // *Molecules*. – 2019. – V. 24. – No. 18. – 3400.
<https://doi.org/10.3390/molecules24183400>

770. Tsita, K. G. Decarbonizing the Greek road transport sector using alternative technologies and fuels / K. G. Tsita, P. A. Pilavachi // *Thermal Science and Engineering Progress*. – 2017. – V. 1. – P. 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.tsep.2017.02.003>

771. Unissa, S. A. Development circumstances of four recycling industries (used motor oil, acidic sludge, plastic wastes and blown bitumen) in the world / S. A. Unnisa, M. Hassanpour // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2017. – V. 72. – P. 605–624. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.109>

772. Urakawa, H. Ecological response of nitrification to oil spills and its impact

on the nitrogen cycle / H. Urakawa, S. Rajan, M. E. Feeney, P. A. Sobecky, B. Mortazavi // *Environmental Microbiology*. – 2019. – V. 21, No. 1. – P. 18–33.

<https://doi.org/10.1111/1462-2920.14391>

773. Uyumaz, A. Experimental evaluation of linseed oil biodiesel/diesel fuel blends on combustion, performance and emission characteristics in a DI diesel engine / A. Uyumaz // *Fuel*. – 2020. – V. 267. – P. 117150.

<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117150>

774. Uzunok, S. Reusable polycaprolactone based sorbents with different cross-linking densities for the removal of organic pollutants / S. Uzunok, H. B. Sonmez // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. – 2023 – V. 11, No. 2. – P. 109287.

<https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109287>

775. Valentino, G. Biodiesel/mineral diesel fuel mixtures: Spray evolution and engine performance and emissions characterization / G. Valentino, L. Allocca, S. Iannuzzi, A. Montanaro // *Energy*. – 2011. – V. 36, No. 6. – P. 3924–3932.

<https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.10.052>

776. Varjani, S. Influence of abiotic factors, natural attenuation, bioaugmentation and nutrient supplementation on bioremediation of petroleum crude contaminated agricultural soil / S. Varjani, V. N. Upasani // *Journal of Environmental Management*. – 2019. – V. 245. – P. 358–366.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.070>

777. Varjani, S. J. Polycyclic aromatic hydrocarbons from petroleum oil industry activities: effect on human health and their biodegradation / S. J. Varjani, R. R. Joshi, P. S. Kumar, V. K. Srivastava, V. Kumar, C. Banerjee, R. P. Kumar // *Waste bioremediation. Energy, environment and sustainability* / S. J. Varjani, E. Gnansounou, B. Gurunathan, D. Pant, Z. A. Zakaria (Eds.) // – Singapore: Springer, 2018. – P. 185–

199. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7413-4_9

778. Varvaresou, A. Biosurfactants in cosmetics and biopharmaceuticals / A. Varvaresou, K. Iakovou // *Letters in Applied Microbiology*. – 2015. – V. 61, No. 3. – P. 214–223.

<https://doi.org/10.1111/lam.12440>

779. Veldkamp, H. Enrichment cultures of prokaryotic organisms / H. Veldkamp

// Methods in Microbiology. Volume 3. Part A / Ed. by J. R. Norris, D. W. Ribbons. – London: Academic Press, 1970. – P. 305–361. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70543-9](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70543-9)

780. Verhille, S. *Pseudomonas gessardii* sp. nov. and *Pseudomonas migulae* sp. nov., two new species isolated from natural mineral waters / S. Verhille, N. Batda, F. Dabboussi, M. Hamze, D. Izard, H. Leclerc // International Journal of Systematic Bacteriology. – 1999. – V. 49, Part 4. – P. 1559–1572. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-4-1559>

781. Vidal, R. R. L. Removal of organic pollutants from wastewater using chitosan: a literature review / R. R. L. Vidal, J. S. Moraes // International Journal of Environmental Science and Technology. – 2018. – V.16. – P. 1741–1754. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2061-8>

782. Vieira, I. M. M. An overview of current research and developments in biosurfactants / I. M. M. Vieira, B. L. P. Santos, D. S. Ruzene, D. P. Silva // Journal of Industrial and Engineering Chemistry. – 2021. – V. 100. – P. 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.05.017>

783. Viju, S. Sustainable development of needle punched nonwoven fabrics from silk worm cocoon waste for oil spill removal / S. Viju, R. S. Rengasamy, G. Thilagavathi, C. J. Singh, H. A. K. Mohamed // Journal of Natural Fibers. – 2022. – V. 19, No. 11. – P. 4082–4092. <https://doi.org/10.1080/15440478.2020.1853652>

784. Voloshin, R. A. Review: Biofuel production from plant and algal biomass / R. A. Voloshin, M. V. Rodionova, S. K. Zharmukhamedov, T. N. Veziroglu, S. I. Allakhverdiev // International Journal of Hydrogen Energy. – 2016. – V. 41, No. 39. – P. 17257–17273. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.07.084>

785. Wada, K. Targeted transcriptomic study of the implication of central metabolic pathways in mannosylerythritol lipids biosynthesis in *Pseudozyma antarctica* T-34 / K. Wada, H. Koike, T. Fuji, T. Morita // PLoS One. – 2020. – V. 15, No. 1. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227295>

786. Wang, A. Synergetic effects of microbial-phytoremediation reshape microbial communities and improve degradation of petroleum contaminants / A. Wang,

W. Fu, Y. Feng, Z. Liu, D. Song. // Journal of Hazardous Materials. – 2022. – V. 429. – 128396. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128396>

787. Wang, L. Enzyme immobilization as a sustainable approach toward ecological remediation of organic-contaminated soils: Advances, issues, and future perspectives / L. Wang, X. Du, Y. Li, Y. Bai, T. Tang, J. Wu, H. Liang, D. Gao // Critical Reviews in Environmental Science and Technology. – 2023. <https://doi.org/10.1080/10643389.2023.2180285>

788. Wang, Q. M. Phylogeny of yeasts and related filamentous fungi within *Pucciniomycotina* determined from multigene sequence analyses / Q. M. Wang, M. Groenewald, M. Takashima, B. Theelen, P. J. Han, X. Z. Liu, T. Boekhout, F. Y. Bai // Studies in Mycology. – 2015. – V. 81. – P. 149–189. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.08.002>

789. Wang, S. The harm of petroleum-polluted soil and its remediation research / S. Wang, Y. Xu, Z. Lin, J. Zhang, N. Norbu, W. Liu // AIP Conference Proceedings. – 2017. – V. 1864. – 020222. <https://doi.org/10.1063/1.4993039>

790. Wang, X. Bioremediation of crude oil-contaminated soil by hydrocarbon-degrading microorganisms immobilized on humic acid-modified biofuel ash / X. Wang, J. Zheng, Z. Han, H. Chen // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. – 2019. – V. 94. – P. 1904–1912. <https://doi.org/10.1002/jctb.5969>

791. What is CLEANSPILS? [electronic source]. – Barcelona, Spain : Falcon Spill Absorbents (FSA). – URL: <https://www.environmental-expert.com/products/fsa-cleanspills-granulated-absorbents-216670>

792. White, D. A. Production and characterization of a trehalolipid biosurfactant produced by the novel marine bacterium *Rhodococcus* sp., strain PML026 / D. A. White, L. C. Hird, S. T. Ali // Journal of Applied Microbiology. – 2013. – V. 115, No. 3. – P. 744–755. <https://doi.org/10.1111/jam.12287>

793. Wicker, R. J. Emergent green technologies for cost-effective valorization of microalgal biomass to renewable fuel products under a biorefinery scheme / R. J. Wicker, G. Kumar, E. Khan, A. Bhatnagar // Chemical Engineering Journal. – 2021. – V. 415. – 128932. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128932>

794. Wolf, D. C. Influence of rhamnolipid biosurfactant and Brij-35 synthetic surfactant on ^{14}C -pyrene mineralization in soil / D. C. Wolf, J. Gan // *Environmental Pollution*. – 2018. – V. 243, Part B. – P. 1846–1853. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.031>
795. Woźniak-Karczewska, M. Effect of bioaugmentation on long-term biodegradation of diesel/biodiesel blends in soil microcosms / M. Woźniak-Karczewska, P. Lisiecki, W. Białas, M. Owsianiak, A. Piotrowska-Cyplik, Ł. Wolko, Ł. Ławniczak, H. J. Heipieper, T. Gutierrez, Ł. Chrzanowski // *Science of the Total Environment*. – 2019. – V. 671 – P. 948–958. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.431>
796. Wu, M. Bacterial community shift and hydrocarbon transformation during bioremediation of short-term petroleum-contaminated soil / M. Wu, X. Ye, K. Chen, W. Li, J. Yuan, X. Jiang. // *Environmental Pollution*. – 2017. – V. 223. – P. 657–664. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.079>
797. Wu, M. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil / M. Wu, W. A. Dick, W. Li, X. Wang, Q. Yang, T. Wang, L. Xu, M. Zhang, L. Chen // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2016. – V. 107. – P. 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.019>
798. Wu, M. Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil / M. Wu, J. Wu, X. Zhang, X. Ye // *Chemosphere*. – 2019. – V. 237. – 124456. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124456>
799. Xaaldi Kalhor, A. Potential of the green alga *Chlorella vulgaris* for biodegradation of crude oil hydrocarbons / A. Xaaldi Kalhor, A. Movafeghi, A. D. Mohammadi-Nassab, E. Abedi, A. Bahrami // *Marine Pollution Bulletin*. – 2017. – V. 123, No. 1–2. – P. 286–290. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.08.045>
800. Xiong, Y. W. Root exudates-driven rhizosphere recruitment of the plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus flexus* KLBMP 4941 and its growth-promoting effect on the coastal halophyte *Limonium sinense* under salt stress / Y. W. Xiong, X. W. Li, T. T. Wang, Y. Gong, C. M. Zhang, K. Xing, S. Qin // *Ecotoxicology*

and Environmental Safety. – 2020. – V. 194. – 110374.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128396>

801. Xu, Y. Microbial remediation of aromatics-contaminated soil / Y. Xu, N.Y. Zhou // *Frontiers in Environmental Science & Engineering*. – 2017. – V. 11, No. 2. – 1.
<https://doi.org/10.1007/s11783-017-0894-x>

802. Xu, Y. R. Changes in microbial populations and influencing factors of petroleum-contaminated soils in northern Shaanxi / Y. R. Xu, M. L. Wu, L. Wang // *China Environmental Science*. – 2021. – V. 41, No. 9. – 11.

803. Xue, J. Marine oil-degrading microorganisms and biodegradation process of petroleum hydrocarbon in marine environments: a review / J. Xue, Y. Yu, Y. Bai, L. Wang, Y. Wu // *Current Microbiology*. – 2015. – V. 71, No. 2. – P. 220–228.
<https://doi.org/10.1007/s00284-015-0825-7>

804. Yamamoto, S. Phylogeny of the genus *Pseudomonas*: intrageneric structure reconstructed from the nucleotide sequences of *gurB* and *rpoD* genes / S. Yamamoto, H. Kasai, D. L. Arnold, R. W. Jackson, A. Vivian, S. Harayama // *Microbiology*. – 2000. – V. 146. – P. 2385–2394. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-10-2385>

805. Yan, P. Oil recovery from refinery oily sludge using a rhamnolipid biosurfactant-producing *Pseudomonas* / P. Yan, M. Lu, Q. Yang, H. L. Zhang, Z. Z. Zhang, R. Chen // *Bioresource Technology*. – 2012. – V. 116. – P. 24–28.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.024>

806. Yang, J. Microwave-assisted one-step production of biodiesel from waste cooking oil by magnetic bifunctional SrO–ZnO/MOF catalyst / J. Yang, W. J. Cong, Z. Zhu, Z. D. Miao, Y. T. Wang, Mi. Nelles, Z. Fang // *Journal of Cleaner Production*. – 2023. – V. 395. – 136182. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136182>

807. Yang, J. Source apportionment of PAHs in roadside agricultural soils of a megacity using positive matrix factorization receptor model and compound-specific carbon isotope analysis / J. Yang, P. Sun, X. Zhang, X. Y. Wei, Y. P. Huang, W. N. Du, A. Qadeer, M. Liu // *Journal of Hazardous Materials*. – 2021. – V. 403. – 123592.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123592>

808. Yang, J. S. A proposal of “core enzyme” bioindicator in long-term Pb-Zn ore pollution areas based on topsoil property analysis / J. S. Yang, F. L. Yang, Y. Yang, G. L. Xing, C. P. Deng, Y. T. Shen, L. Q. Luo, B. Z. Li, H. L. Yuan // *Environmental Pollution*. – 2016. – V. 213. – P. 760–769. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.030>
809. Yang, Q. Anaerobic co-digestion of oil sludge with corn stover for efficient biogas production / Q. Yang, C. Zhang, L. Li, W. Xu // *Sustainability*. – 2020. – V. 12, No. 5. – 1861. <https://doi.org/10.3390/su12051861>
810. Yang, Y. Soil bacterial community structures across biomes in artificial ecosystems / Y. Yang, S. H. Lee, I. Jang, H. Kang // *Ecological Engineering*. – 2020. – V. 158. – 106067. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.106067>
811. Yang, M. Hydrophobic modification of sepiolite by fatty acids for efficient oil removal: Influence of the alkyl chain length / M. Yang, Y. Gao, J. Zhang, F. Zhou // *Applied Clay Science*. – 2023. – V. 235. – 106867. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2023.106867>
812. Yao, L. A review study on new aspects of biodemulsifiers: Production, features and their application in wastewater treatment / L. Yao, A. Selmi, H. Esmaceli // *Chemosphere*. – 2021. – V. 284. – 131364. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131364>
813. Yi, Y. Changes in ecological properties of petroleum oil-contaminated soil after low-temperature thermal desorption treatment / Y. Yi, S. Park, C. Munster, G. Kim, K. Sung // *Water, Air & Soil Pollution*. – 2016. – V. 227. – P. 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2804-4>
814. Yong, J. J. J. Y. Prospects and development of algal-bacterial biotechnology in environmental management and protection / J. J. J. Y. Yong, K. W. Chew, K. S. Khoo, P. L. Show, J. S. Chang // *Biotechnology Advances*. – 2021. – V. 47. – 107684. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107684>
815. Yoshitake, S. Soil microbial succession along a chronosequence on a High Arctic glacier foreland, Ny-Ålesund, Svalbard: 10 years' change / S. Yoshitake, M. Uchida, Y. Iimura, T. Ohtsuka, T. Nakatsubo // *Polar Science*. – 2018. – V. 16. – P. 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.polar.2018.03.003>

816. Youssef, H. F. Evaluation of antimicrobial activity of different silver-exchanged nano and micronized zeolites prepared by microwave technique / H.F. Youssef, M.S. Abdel-Aziz, F.K. Fouada // *Journal of Porous Materials*. – 2016. – V. 24. – P. 947–957. <https://doi.org/10.1007/s10934-016-0334-5>

817. Yuzbasheva, E.Y. Metabolic engineering strategy for producing free fatty acids by the *Yarrowia lipolytica* yeast based on impairment of glycerol metabolism / E. Y. Yuzbasheva, E. B. Mostova, N. I. Andreeva, T. V. Yuzbashev, A. S. Fedorov, S. P. Sineoky, I. A. Konova // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2018. – V. 115, No. 2. – P. 433–443. <https://doi.org/10.1002/bit.26402>

818. Zahed, M. A. Biotechnology for carbon capture and fixation: Critical review and future directions / M. A. Zahed, E. Movahed, A. Khodayari, S. Zanganeh, M. Badamaki // *Journal of Environmental Management*. – 2021. – V. 293. – 112830. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112830>

819. Zamotaev, I. V. Chemical contamination and transformation of soils in hydrocarbon production regions / I. V. Zamotaev, I. V. Ivanov, P. V. Mikheev, A. N. Nikonova // *Eurasian Soil Science*. – 2015. – V. 48, No. 12. – P. 1370–1382. <https://doi.org/10.1134/s1064229315120133>

820. Zamulina, I. N. Soil organic matter and biological activity under long-term contamination with copper / I. V. Zamulina, A. V. Gorovtsov, T. M. Minkina, S. S. Mandzhieva, M. V. Burachevskaya, T. V. Bauer // *Environmental Geochemistry and Health*. – 2022. – V. 44. – P. 387–398. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-01044-4>

821. Zayadan, B. K. Waste-free technology of wastewater treatment to obtain microalgal biomass for biodiesel production / B. K. Zayadan, A. K. Sadvakasova, A. A. Usserbayeva, K. Bolatkhan, A. M. Baizhigitova, N. R. Akmukhanova, R. A. Sidorov, M. A. Sinetova, D. A. Los // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2017. – V. 42, No. 12. – P. 8586–8591. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.12.058>

822. Zdarta, A. Hydrocarbon-induced changes in proteins and fatty acids profiles of *Raoultella ornithinolytica* M03 / A. Zdarta, J. Tracz, M. Luczak, U. Guzik, E. Kaczorek // *Journal of Proteomics*. – 2017. – V. 164. – P. 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.05.028>

823. Zhao, H. M. Biodegradation pathway of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a novel *Rhodococcus pyridinivorans* XB and its bioaugmentation for remediation of DEHP contaminated soil / H. M. Zhao, R. W. Hu, X. X. Chen, X. B. Chen, H. Lü, Y. W. Li, C. H. Mo, Q. Y. Cai, M. H. Wong // *Science of the Total Environment*. – 2018. – V. 640–641. – P.1121–1131. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.334>
824. Zhu, Z. Biosurfactant production by marine-originated bacteria *Bacillus subtilis* and its application for crude oil removal / Z. Zhu, B. Zhang, B. Chen, Q. Cai, W. Lin // *Water, Air & Soil Pollution*. – 2016. – V. 227. – 328. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3012-y>
825. Zhuang, X. Comparison of the efficiency and microbial mechanisms of chemical- and bio-surfactants in remediation of petroleum hydrocarbon / X. Zhuang, Y. Wang, H. Wang, Y. Dong, X. Li, S. Wang, H. Fan, S. Wu // *Environmental Pollution*. – 2022. – V. 314. – 120198. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120198>
826. Żur, J. Metabolic responses of bacterial cells to immobilization / J. Żur, D. Wojcieszńska, U. Guzik // *Molecules*. – 2016. – V. 21, No 7. – P. 958. <https://doi.org/10.3390/molecules21070958>

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ МИКРООРГАНИЗМОВ
им. Г.К. Скрябина Российской академии наук
(ИБФМ РАН)

просп. Науки, д. 5, г. Пушкино, Московская обл., 142290
 Тел./факс (495) 956-33-70, (495) 632-78-70, тел. (495) 625-74-48, E-mail: boronin@ibpm.pushchino.ru
 ОГРН 1025007771491, ИНН/КПП 5039000146/503901001, ОКПО 02699702, ОКВЭД 73.10, ОККОПФ 20903,
 Отдел № 34, УФК по Московской области (ИБФМ РАН лицевой счет 204861Ц87560),
 Р/с 40501810300002000104 Отделение 1 Москва; БИК 044583001

11.04.2016 № 114-03-1-4-1412

на № _____ от _____

СВИДЕТЕЛЬСТВО
о депонировании

Кому Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС", 167023, Республика
Коми, г.Сыктывкар, ул.Журавского, д. 12
 (имя депозитора и наименование организации, адрес)

1. Микроорганизм *Pseudomonas yamanorum* S1-09.15.
 (наименование микроорганизма опознавательная ссылка, присвоенная депозитором [номер, символ и т.д.])

Регистрационный номер, присвоенный ВКМ ВКМ В-3033D

2. Микроорганизм, поименованный в графе 1, сопровождался Ходатайством о депонировании, включавшем:

научное описание	<input type="checkbox"/>
таксономическое определение	<input type="checkbox"/>
научное описание и таксономическое определение	<input checked="" type="checkbox"/>
справку о непатогенности	<input type="checkbox"/>

3. Настоящим подтверждается, что микроорганизм, поименованный в графе 1, депонирован Всероссийской коллекцией микроорганизмов ИБФМ им. Г.К.Скрябина РАН в связи с подачей заявки на оформление национального патента.

Настоящее свидетельство действительно в течение 2 (двух) лет от даты его регистрации

Дата депонирования 10.03.2016

Заместитель директора Института
 докт.биол.наук, профессор



Вайнштейн М.Б.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ МИКРООРГАНИЗМОВ
им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук
(ИБФМ РАН)
ВСЕРОССИЙСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ



ВКМ
 Всероссийская коллекция микроорганизмов
 ВКМ

Адрес: 142290, Московская обл., г. Пущино, просп. Науки, 5
 Телефон/Факс: (496) 731-86-53; Тел./Факс (495) 956-33-70
 E-mail: vkm@ibpm.pushchino.ru

31.01.2018 № 114-02-1-4-1435

на № _____ от _____

СПРАВКА

Штамм ВКМ В-3033D *Pseudomonas yamanorum* был депонирован ООО "БИОЭКОБАЛАНС" в связи с патентной процедурой во Всероссийской коллекции микроорганизмов 10.03.2016 г. (свидетельство о депонировании № 12310/02-1-4-1412 от 11.4.2016).

Штамм хранится в фонде ВКМ в законсервированном жизнеспособном состоянии (методы лиофилизации и криоконсервации) и будет храниться в течение 30 лет со дня оформления на него патентной документации.

Справка выдана по запросу Депозитора: ООО "БИОЭКОБАЛАНС", исходящий № УПР 01-05 001-2018 от 30.01.2018 г.

Зав. отделом ВКМ,
 д.б.н.

Л.И.Евтушенко

31.01.2018 г.



Подпись: *Евтушенко Л.И.*
 Зав. канцелярией
 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
 Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
 им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1. by the

INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
All-Russian Collection of Microorganisms
Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms
Russian Academy of Sciences (IBPM)

«BIOECOBALANS-
OOO» (Limited Liability
Company),
12 Zhuravskogo st.,
167023, Syktyvkar, Komi
Republic, Russia

NAME AND ADDRESS
OF DEPOSITOR

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: Rhodotorula glutinis 2SR-14	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: VKM Y-2998D
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I above was accompanied by:	
<input checked="" type="checkbox"/>	a scientific description
<input type="checkbox"/>	a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable)
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depository Authority accepts the microorganism identified under I above, which was received by it on 18.01.2016 (date of the original, deposit) ¹	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depository Authority on _____ (date of the original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on _____ (date of receipt of request for conversion)	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: G.K.Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms Russian Academy of Science (IBPM)	Signature(s) of person (s) having the power to represent the International Depository Authority or of authorized official (s) <i>Deputy Director M. V. Vashchenko</i>
Address: Prospekt Nauki 5, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia	Date 25.01.2016

¹ Where Rule 6.A (d) applies, such date is the date on which the status of international depository authority was acquired.

КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ (IPPAS)

127276, Москва, И-276, Ботаническая ул. 35, ИФР РАН
e-mail: maria.sinetova@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН

СПРАВКА*

о депонировании штамма в коллекции микроводорослей
ИФР РАН (IPPAS)

Наименование депонированного штамма:

Chlorella vulgaris Beijer. f. *globosa* V. Andr.

род и вид в латинской транскрипции, авторское наименование штамма

Заявители:

ООО «БИОЭКОБАЛАНС»

Адрес:

167023, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Журавского, д. 12.

Назначение штамма:

в нефтезагрязненной жидкой среде снижается содержание поверхностно-активных углеводов (ПАУ), алканов. В сточной воде лесопромышленного комплекса снижает содержание основных загрязняющих веществ, патогенных микроорганизмов. В водных экосистемах улучшает кислородный режим.

Дата депонирования:

4 сентября 2017 г.

Регистрационный номер, присвоенный депонированному штамму:

IPPAS C-2024

Директор Института,
д.б.н., проф.



Д.А. Лось

Руководитель коллекции,
к.б.н.

М.А. Синетова

(*) Справка прилагается к описанию изобретения на штамм, культуру микроводорослей, способ получения веществ биотехнологическим путем, вещество, полученное биотехнологическим путем и т.п. для патентной процедуры





«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИИ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ РЕГЛАМЕНТАЦИИ
БИОПРЕПАРАТОВ» – ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ»
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА

(НИЦ ТБП – филиал ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России)

142253 Россия, Московская область, Серпуховский район, пос. Большевик, ул. Ленина 102А, тел./факс +7(4967)39-97-38, E-mail:toxic@online.stack.net

УТВЕРЖДАЮ



Директор НИЦ ТБП – филиала ФГБУ
«ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России
доктор медицинских наук, профессор

Н.Р. Дядищев

25 мая 2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о патогенности (вирулентности, диссеминации, токсичности, токсигенности) ассоциации микроорганизмов *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D и *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D для теплокровных животных

В соответствии с Методическими указаниями Минздрава СССР № 4263-87, №2620-82 и с учетом рекомендаций ВОЗ (Бюлл. ВОЗ, 1981, № 6, с. 20-27) на беспородных белых крысах и беспородных белых мышах изучены вирулентность, диссеминация, токсичность, токсигенность ассоциации микроорганизмов *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D и *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D.

Вирулентность изучали при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении взвеси ассоциации микроорганизмов в физиологическом растворе. Белым крысам и белым мышам внутрибрюшинно и внутрижелудочно вводили ассоциацию микроорганизмов в сумме по 10^6 , 10^7 , 10^8 и 10^9 микробных клеток на животное. Контрольным группам животных вводили физиологический раствор. В опыте и контроле использовали по 6 животных на дозу при каждом введении. В период наблюдения клинических симптомов заболевания у животных не было, гибель отсутствовала.

LD₅₀ для крыс при внутрибрюшинном введении ассоциации микроорганизмов превышает 10^9 микробных клеток. Для мышей LD₅₀ при внутрибрюшинном и при внутрижелудочном введении также превышает 10^9 микробных клеток. Таким образом, ассоциация микроорганизмов *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D и *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D не является вирулентной.

Для изучения диссеминации через 30 суток после введения ассоциации микроорганизмов, животных умерщвляли ингаляцией CO₂ и методом отпечатков делали посев из внутренних органов белых мышей (сердца, легких, печени, почек и селезенки) на чашки Петри с агаризованной средой. Рост микроорганизмов в высевах из органов животных при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении не обнаружен. Таким образом, микроорганизмы, входящие в исследуемую ассоциацию, не способны к диссеминации и не вызывает бактериального поражения органов.

Токсичность ассоциации микроорганизмов оценивали путем внутрибрюшинного введения беспородным белым мышам взвеси микроорганизмов, приготовленной на стерильном физиологическом растворе и инактивированной нагреванием при 70°C в течение 30 минут, в концентрациях 10^8 и 10^9 по сумме всех микробных клеток, входящих в ассоциацию, на животное. Контрольной группе животных вводили физиологический раствор. В опыте и

контроле использовали по 6 животных на дозу. В течение срока наблюдения (15 суток) гибели мышей не было. Таким образом, компоненты микробных клеток исследуемой ассоциации микроорганизмов *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D и *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D не являются токсичными для теплокровных животных.

Токсигенность ассоциации микроорганизмов изучали на мышах при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении фильтрата культуральных жидкостей после 3-х и 7-ми суток культивирования. Фильтрат 3-х суточных культуральных жидкостей вводили внутрижелудочно по 1,0; 1,6 и 2,0 мл; внутрибрюшинно - по 0,5; 1,0 и 1,6 мл. Фильтрат 7-ми суточных культуральных жидкостей вводили внутрижелудочно по 0,8; 1,4 и 1,8 мл; внутрибрюшинно - по 0,3; 0,8 и 1,4 мл. В случае, когда вводимый объем превышал 1,0 мл, дозу делили пополам и вводили в 2 приема с интервалом в 4 часа. Контрольным животным вводили стерильную питательную среду в таких же объемах. В опыте и контроле использовали по 6 животных на дозу при каждом введении. На протяжении всего срока наблюдения (15 суток) клинических симптомов заболевания и гибели животных не было. При внутрижелудочном введении ЛД₅₀ для фильтрата 3-х суточных культуральных жидкостей превышает 2,0 мл; при внутрибрюшинном - 1,6 мл на животное. Для 7-ми суточных культуральных жидкостей ЛД₅₀ при внутрижелудочном введении превышает 1,8 мл, при внутрибрюшинном - 1,4 мл на животное.

Полученные результаты свидетельствуют о не токсигенности ассоциации микроорганизмов *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D и *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D для теплокровных животных.

Таким образом, по показателям вирулентности, диссеминации, токсичности и токсигенности ассоциация микроорганизмов *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D и *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D, является не патогенной для теплокровных животных.

Начальник лаборатории
Канд. биол. наук



А.В. Воробьев



Федеральное медико-биологическое агентство
Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения
Головной центр гигиены и эпидемиологии

ОРГАН ИНСПЕКЦИИ

адрес: 123182, г. Москва, 1-й Пехотный переулок, д. 6
телефон/факс: Тел. (499) 190-4861, Факс (499) 196-6277

АТТЕСТАТ АККРЕДИТАЦИИ
№ RA.RU.710138

УТВЕРЖДАЮ
Зам. руководителя Органа инспекции

А.И. Петухов

М.п.

от «22» 12 20 17 г.

№ 23571/2017

ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по результатам санитарно-эпидемиологической экспертизы продукции

на основании заявления № 3494/17

от

18 декабря 2017 г.

Организация-заявитель: Общество с ограниченной ответственностью «БИОЭКОБАЛАНС»
Адрес: 167023, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Журавского, д. 12

Организация-изготовитель: Общество с ограниченной ответственностью
«БИОЭКОБАЛАНС» Адрес: 167023, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Журавского, д. 12

Наименование продукции: Консорциум штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов
«БИОТРИН» (BIOTRIN) ТОРГОВОЙ МАРКИ: «БИОТРИН» (BIOTRIN)

Код ТН ВЭД: 3002905000

Область применения: консорциум «БИОТРИН» в комплексе с различными носителями предназначен для очистки нефтезагрязненных субстратов (почвы и/или воды, и/или неорганических сыпучих материалов и пр.), для ликвидации последствий аварийных ситуаций на нефте- газопромыслах, трассах нефте- газопроводов, пунктах складирования нефти и нефтепродуктов, а также других местах, где в производственном обороте возможно углеводородное загрязнение субстратов (почвы и/или воды, и/или неорганических сыпучих материалов).

Консорциум «БИОТРИН», иммобилизованный на различных органических, минеральных и синтетических носителях, применяют в нефтегазовой, транспортной, энергетической, дорожной отраслях, а также в сфере экологической защиты окружающей среды и рационального природопользования.

Продукция изготовлена в соответствии с: документацией изготовителя,
ТУ 39.00.11-001В-24941753-2017

Перечень документов, представленных на экспертизу: заявление на проведение экспертизы, устав, свидетельство о государственной регистрации юридического лица, свидетельство о внесении записи в ЕГРЮЛ, свидетельство о постановке на учет в налоговом органе, лист записи ЕГРЮЛ о внесении изменений в сведения о юридическом лице, приказ о назначении генерального директора, протокол испытаний, ТУ 39.00.11-001В-24941753-2017

Характеристика продукции: согласно документации изготовителя.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОДУКЦИИ

Согласно протоколу испытаний № 2-СХТ-1591-17 от 18 декабря 2017 г., выданному ИСПЫТАТЕЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРИЕЙ ООО «ПОЛИМЕРТЕСТ» (Аттестат № РОСС RU.0001.21ХИ04 (дата внесения в реестр Росаккредитации 09.09.2014 г.)) типовые образцы указанной продукции были подвергнуты испытаниям на соответствие Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) утв. решением Комиссии таможенного союза № 299 от 28.05.2010г. (глава II, раздел 19)

Вещества, показатели (факторы),

№	Определяемые показатели	Единица измерения	Значение и допуск показателя	НД на метод испытания	Номер пробы	Результаты испытаний
1	2	3	4	5	6	7
1	Острая токсичность при введении в желудок, $DL_{50\text{в/ж}}$ (б.крысы)	мг/кг	2–4 класс опасности $15 \leq DL_{50} < 5000$	ГОСТ 12.1.007-76	1591СХТ	4 класс опасности $DL_{50} > 5000$
2	Острая токсичность при ингаляционном воздействии в насыщающих концентрациях (б. мыши)	мг/м ³	Не регламентируется	МУ 2196-80	1591СХТ	4 класс опасности не раздражает слизистые оболочки верхних дыхательных путей
3	Подострая пероральная токсичность (Lim), K_{cum}	коэф.	Не регламентируется	МУ 2102-79	1591СХТ	4 класс опасности $K_{cum} > 5$
4	Резорбтивное действие через кожу (б. мыши)		Не регламентируется	МУ 2102-79	1591СХТ	резорбтивное действие не выявлено
5	Раздражающее действие на кожные покровы - однократно - повторно (м. свинки)	балл	0 - 8	МУ 2196-80	1591СХТ	1 1
6	Раздражающее действие на конъюнктиву глаза (м. свинки)	балл	0 - 10	МУ 2196-80	1591СХТ	2
7	Сенсибилизирующее действие (м. свинки)	балл	Не регламентируется	МУ 1.1.578-96	1591СХТ	Сенсибилизирующее действие не выявлено

По результатам проведенных испытаний продукции: Консорциум штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов «БИОТРИН» (BIOTRIN) ТОРГОВОЙ МАРКИ: «БИОТРИН» (BIOTRIN) отклонений от Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), утв. решением Комиссии таможенного союза № 299 от 28.05.2010 (глава II, раздел 19), не установлено.

Протокол испытаний, указанных образцов продукции отражает условия и методы испытаний, полученные данные. Испытания проведены аккредитованной и лицензированной организацией, выполнены в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов, результаты зарегистрированы и оформлены надлежащим образом и приемлемы для гигиенической оценки.

Условия использования, хранения, транспортировки и меры безопасности:
в соответствии с документацией изготовителя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспертиза проведена в соответствии с действующими Едиными санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требованиями к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), утв. решением Комиссии Таможенного союза № 299 от 28.05.2010, с использованием методов и методик, утвержденных в установленном порядке.

Продукция: Консорциум штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов «БИОТРИН» (BIOTRIN) ТОРГОВОЙ МАРКИ: «БИОТРИН» (BIOTRIN) **соответствует (не соответствует)** Единым санитарно-эпидемиологическим и гигиеническим требованиям к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), утв. решением Комиссии таможенного союза № 299 от 28.05.2010 (глава II, раздел 19)

Настоящее экспертное заключение выдано для целей подтверждения результатов лабораторных исследований и проверки соответствия образца продукции требованиям Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), утвержденных решением Комиссии Таможенного союза № 299 от 28.05.2010.

Врач по общей гигиене



А.В. Бормашов

**ЕВРАЗИЙСКОЕ АГЕНТСТВО ТЕХНИЧЕСКОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ И МЕТРОЛОГИИ
СИСТЕМА ДОБРОВОЛЬНОЙ СЕРТИФИКАЦИИ ЕВРАЗСТАНДАРТ
РОСС RU.И1513.04ИЕЯО**

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ СЕРТИФИКАЦИЯ

ООО «Идеал Тест»

Наименование органа по добровольной сертификации
Юридический адрес: 127238, город Москва, Локомотивный проезд, дом № 21, корпус 5,
помещение I, комната 32. Телефон: +7 (499) 755-53-41, факс: +7 (499) 755-53-41,
Юридический адрес, телефон, электронная почта
e-mail: info@ideal-test.ru

рег. № ESTD.B.002. от 21.10.2016
Регистрационный номер и дата выдачи аттестата аккредитации

№ 0000056

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ СЕРТИФИКАТ СООТВЕТСТВИЯ

№ ESTD4.B002.AB054

**Внесен в Реестр Системы добровольной
сертификации ЕВРАЗСТАНДАРТ**

Дата выдачи 15.12.2017
Действителен до 14.12.2020



**НАСТОЯЩИЙ СЕРТИФИКАТ УДОСТОВЕРЯЕТ, ЧТО ДОЛЖНЫМ ОБРАЗОМ
ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЙ ОБЪЕКТ СЕРТИФИКАЦИИ ПО ЭКОЛОГИЧЕСКИМ
ТРЕБОВАНИЯМ Биосорбент для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами
почв, грунтов и водных объектов «ГЕОЛЕКС» (GEOLECS)**

Наименование объекта сертификации Системы

**СООТВЕТСТВУЕТ ТРЕБОВАНИЯМ СЛЕДУЮЩИХ НОРМАТИВНЫХ
ДОКУМЕНТОВ** ТУ 39.00.11-001G-24941753-2017; протокола испытаний №
3533/01/12-2017 от 14.12.2017 г., выдан ИЛ "ПГО" аттестат № ESTD.L.004 от 03.02.2017
года, адрес: МО, г. Видное, Каширское шоссе, владение 9, строение 2

Сведения о держателе сертификата
Общество с ограниченной ответственностью «БИОЭКОБАЛАНС»

Наименование
167023, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Журавского, д. 12

Телефон +7 (8212) 27-01-18
Юридический адрес, телефон, электронная почта



М.П. **Руководитель органа
по сертификации**
Идеал Тест
Эксперт (аудитор)

подпись

подпись

Черепанова А.А.
инициалы, фамилия

подпись

подпись

Щетинин В.Н.
инициалы, фамилия



№ 000271

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ
И МЕТРОЛОГИИ**

СИСТЕМА ДОБРОВОЛЬНОЙ СЕРТИФИКАЦИИ «Эко Лайн»

№ РОСС RU.32046.04ЭГК0

Орган по сертификации

Общество с ограниченной ответственностью "Гарантия Качества"

Адрес: 236007, город Калининград, улица Дмитрия Донского, дом 7/11,

офис 101В. Телефон: 8-800-700-22-56, e-mail: eco@garantiso.ru, сайт: Eco.garantiso.ru

№ РОСС RU.32046.04ЭГК01

СЕРТИФИКАТ СООТВЕТСТВИЯ

Регистрационный № ECO.RU.0001.ЭГК39068

**НАСТОЯЩИЙ СЕРТИФИКАТ УДОСТОВЕРЯЕТ, ЧТО ОБЪЕКТ
СЕРТИФИКАЦИИ**

Биогеосорбент для очистки нефтезагрязненных объектов «ГЕОЛЕКС»
(GEOLECS).

**СООТВЕТСТВУЮТ ЭКОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ
ГОСТ СТО-ЭКО.01-2019 (GOST STO-ECO.01-2019)**

«Оценка соответствия. Качественные показатели оценки экологической
продукции».

СЕРТИФИКАТ ВЫДАН НА ОСНОВАНИИ Отчета о проведении оценки
качественных характеристик № 01-88/Л от 16.04.2021 года.

СВЕДЕНИЯ О ДЕРЖАТЕЛЕ СЕРТИФИКАТА

Общество с ограниченной ответственностью «БИОЭКОБАЛАНС».

ИНН: 1101052409. Юридический адрес: 167023, Республика Коми, г. Сыктывкар,
ул. Журавского, д. 12. Телефон: +7(906)879-27-09.

Дата регистрации «16» апреля 2021 г.

Срок действия до «16» апреля 2024 г.



**Руководитель органа
по сертификации**

(подпись)

Е. С. Секерин

Настоящий сертификат свидетельствует о том, что объект соответствует требованиям стандарта ГОСТ СТО-ЭКО.01-2019 (GOST STO-ECO.01-2019) в соответствии с данными, полученными в результате проведения оценки соответствия. Система добровольной сертификации «Эко Лайн» не гарантирует при проведении ежегодного инспекционного контроля.



№ 000272

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ
И МЕТРОЛОГИИ**

СИСТЕМА ДОБРОВОЛЬНОЙ СЕРТИФИКАЦИИ «Эко Лайн»

№ РОСС RU.32046.04ЭГКО

Орган по сертификации

Общество с ограниченной ответственностью "Гарантия Качества"

Адрес: 236007, город Калининград, улица Дмитрия Донского, дом 7/11,
офис 101В. Телефон: 8-800-700-22-56, e-mail: eco@garantiso.ru, сайт: Eco.garantiso.ru

№ РОСС RU.32046.04ЭГКО1

**Разрешение
на применение знака соответствия
Системы добровольной сертификации «Эко Лайн»**

Разрешение выдано Обществу с ограниченной ответственностью
«БИОЭКОБАЛАНС». ИНН: 1101052409. Юридический адрес: 167023, Республика
Коми, г. Сыктывкар, ул. Журавского, д. 12. Телефон: +7(906)879-27-09.

На основании действия сертификата соответствия № ECO.RU.0001.ЭГК39068
от «16» апреля 2021 г.

**Разрешение дано на применение знака соответствия Системы добровольной
сертификации «Эко Лайн»**

Дата регистрации «16» апреля 2021 г.

Срок действия до «16» апреля 2024 г.

**Условия применения знака соответствия Системы добровольной
сертификации «Эко Лайн»:**

Допускается использовать знак соответствия Системы при маркировке продукции,
в рекламных буклетах, проспектах, брошюрах, плакатах, на сайтах организации в
сети Интернет, бланках организационно-распорядительной документации
организации - держателя сертификата, в соответствии с правилами применения
знака соответствия Системы.

Не допускается использование сертификата и знака соответствия Системы
применительно к деятельности, на которую не распространяется область действия
сертификата соответствия.



**Руководитель органа
по сертификации**

(подпись)

Е. С. Секерин



БИОЭКОБАЛАНС

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ

УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО «БИОЭКОБАЛАНС»



Мешкело С.М.


«БИОТРИН» (BIOTRIN)

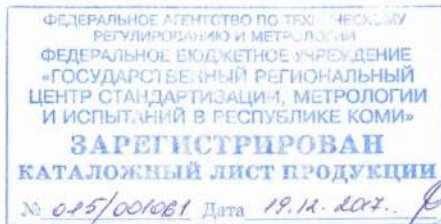
КОНСОРЦИУМ ШТАММОВ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Технические условия
ТУ 39.00.11-001В-24941753-2017
(вводятся впервые)

РАЗРАБОТАНО:

Зам. директора по науке ООО «БИОЭКОБАЛАНС»

 к.б.н. Щемелина Т.Н.



СЫКТЫВКАР 2017

Каталожный лист продукции

Код ЦСМ	01 015	Группа КГС(ОКС)	02 13.020	Регистрационный номер	03 001061
---------	--------	-----------------	-----------	-----------------------	-----------

Код ОКП	11	39.00.11	
Наименование и обозначение продукции	12	Консорциум штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов «БИОТРИН» (BIOTRIN)	
Обозначение государственного стандарта	13	-	
Обозначение нормативного или технического документа	14	ТУ 39.00.11-001В-24941753-2017	
Наименование нормативного или технического документа	15	Консорциум штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов «БИОТРИН» (BIOTRIN)	
Технические условия			
Код предприятия-изготовителя по ОКПО и штриховой код	16	24941753	
Наименование предприятия-изготовителя	17	ООО «БИОЭКОБАЛАНС»	
Адрес предприятия-изготовителя (индекс, область, город, улица, дом)	18	167023	г. Сыктывкар
		ул. Журавского, д.12	
Телефон	19	8(8212)270118	Телефакс
			20 -
Другие средства связи	21	e-mail: info@bioecobalance.com	
Наименование держателя подлинника	23	ООО «БИОЭКОБАЛАНС»	
Адрес держателя подлинника (индекс, область, город, улица, дом)	24	167023	г. Сыктывкар
		ул. Журавского, д.12	
Дата начала выпуска продукции	25	01.03.2018	
Дата введения в действие нормативного или технического документа	26	29.08.2017	
Обязательность сертификации	27	Не подлежит (Отказное письмо №1388 от 13.12.17)	

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ
 ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
 «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕГИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И ИСПЫТАНИЙ В РЕСПУБЛИКЕ КОМИ»
ЗАРЕГИСТРИРОВАН
КАТАЛОЖНЫЙ ЛИСТ ПРОДУКЦИИ
 № 015/001061 Дата 18.12.2017.

30. Характеристики продукции

Консорциум «БИОТРИН» в комплексе с различными носителями предназначен для очистки нефтезагрязненных субстратов (почвы и/или воды, и/или неорганических сыпучих материалов и пр.), для ликвидации последствий аварийных ситуаций на нефтегазопромыслах, трассах нефтегазопроводов, пунктах складирования нефти и нефтепродуктов, а также других местах, где в производственном обороте возможно углеводородное загрязнение субстратов (почвы и/или воды, и/или неорганических сыпучих материалов).

Основные характеристики

№	Вид информации	Содержание
1	Торговое наименование	Консорциум штаммов «БИОТРИН» (BIOTRIN)
2	Назначение	Деструктор углеводородных и гетероциклических составляющих нефтепродуктов.
3	Происхождение	Биопрепарат на основе микроорганизмов.
4	Действующие вещества	Штаммы бактерий <i>Pseudomonas yamanorum</i> VKM B-3033D, дрожжей <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D, микроводорослей <i>Chlorella vulgaris</i> IPPAS C-2024.
5	Химический класс	-
6	Концентрация	Эффективное соотношение штаммов защищено ноу-хау, исходный титр от 10^8 до 10^{10} живых клеток/г. (в зависимости от вида микроорганизма).
7	Сфера применения	В комплексе с различными носителями: очистка от нефтезагрязнений почвы, грунтов, пленочных загрязнений поверхностей воды, сточных вод, донных отложений, нефтешламов.
8	Способ применения	Поверхностное внесение в комплексе с различными носителями.
9	Время применения	Любое время года при температуре воздуха от $+3^{\circ}\text{C}$ до $+40^{\circ}\text{C}$; температуре воды от $+1^{\circ}\text{C}$ до $+30^{\circ}\text{C}$
10	Норма расхода	В зависимости от типа носителя, концентрации и характера загрязнения в иммобилизованной на носитель форме: для почв и грунтов - от 5 до 40 кг/га, для нефтешламов - от 1 до 4 кг/м ³ , для воды - от 0,15 до 0,40 кг/м ³ .
11	Количество обработок	Кратность обработки - в зависимости от концентрации загрязнения и типа носителя от 1-го до 3-х раз. При кратном применении интервал между обработками 2-3 недели.

Штаммы консорциума «БИОТРИН» (BIOTRIN) опасного воздействия на людей и окружающую среду не оказывают. В процессе превращения и разложения препарата опасные для здоровья людей и окружающей среды метаболиты не образуются. По показателям вирулентности, диссеминации, токсичности и токсигенности является не патогенным для человека и теплокровных животных. Экологически безопасен, не является источником загрязнения.

Согласно СанПиН 1.2.2584-10 относится к 3В классу опасности - аллерген (умеренно опасен). При соблюдении обычных правил гигиены и техники безопасности безвреден для людей и окружающей среды.

		Фамилия	Подпись	Дата	Телефон
Представил	04	Мешкело С.М.		19.12.2017	8(8212)270118
Заполнил	05	Мешкело С.М.		15.12.2017	8(912)8670118
Зарегистрировал	06	Вильмутова О.В.		19.12.2017	8(8212) 44-25-62
Ввел в каталог	07	Вильмутова О.В.		19.12.2017	8(8212) 44-25-62



ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ

УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО «БИОЭКОБАЛАНС»



Мешкело С.М.

«ГЕОЛЕКС» (GEOLECS)

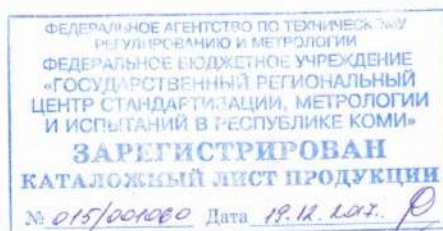
биосорбент

для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами
почв, грунтов и водных объектов

Технические условия


ТУ 39.00.11-001G-24941753-2017

(вводятся впервые)



РАЗРАБОТАНО:

Зам. директора по науке ООО «БИОЭКОБАЛАНС»

 к.б.н. Щемелина Т.Н.

СЫКТЫВКАР 2017

Каталожный лист продукции

Код ЦСМ	01 015	Группа КГС(ОКС)	02 13.020	Регистрационный номер	03 001060
---------	--------	-----------------	-----------	-----------------------	-----------

Код ОКП	11	39.00.11
Наименование и обозначение продукции	12	«ГЕОЛЕКС» (GEOLECS) биосорбент для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв, грунтов и водных объектов
Обозначение государственного стандарта	13	-
Обозначение нормативного или технического документа	14	ТУ 39.00.11-001G-24941753-2017
Наименование нормативного или технического документа	15	«ГЕОЛЕКС» (GEOLECS) биосорбент для очистки загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв, грунтов и водных объектов
Технические условия		
Код предприятия-изготовителя по ОКПО и штриховой код	16	24941753
Наименование предприятия-изготовителя	17	ООО «БИОЭКОБАЛАНС»
Адрес предприятия-изготовителя (индекс, область, город, улица, дом)	18	167023 г. Сыктывкар ул. Журавского, д.12
Телефон	19	8(8212)270118
Телефакс	20	-
Другие средства связи	21	e-mail: info@bioecobalance.com
Наименование держателя подлинника	23	ООО «БИОЭКОБАЛАНС»
Адрес держателя подлинника (индекс, область, город, улица, дом)	24	167023 г. Сыктывкар ул. Журавского, д.12
Дата начала выпуска продукции	25	12.03.2018
Дата введения в действие нормативного или технического документа	26	01.11.2017
Обязательность сертификации	27	Не подлежит (Отказное письмо №1388 от 13.12.17)

30. Характеристики продукции

Биосорбент «ГЕОЛЕКС» (GEOLECS) представляет собой комплекс из получаемого в лабораторных, опытно-промышленных и промышленных условиях консорциума штаммов природных нефтеокисляющих микроорганизмов «БИОТРИН» (BIOTRIN), отличающихся спецификой деструкции углеводородных и гетероциклических составляющих нефтепродуктов, и адсорбента на основе глауконитового концентрата БМТО.


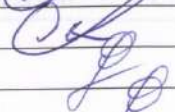


Биосорбент «ГЕОЛЕКС» (GEOLECS) предназначен для очистки различных объектов (почвы и/или воды, и/или неорганических сыпучих материалов и пр.), от загрязнений нефтью. Нефтепродуктами, а также загрязнителей из числа тяжелых металлов; для ликвидации последствий аварийных ситуаций на нефте-газопромыслах, трассах нефте-газопроводов, пунктах складирования нефти и нефтепродуктов, а также других местах, где в производственном обороте возможно углеводородное загрязнение почвы, грунтов и водоемов.

Основные характеристики

№	Вид информации	Содержание
1	Торговое наименование	Биосорбент «ГЕОЛЕКС» (GEOLECS)
2	Назначение	Адсорбент-деструктор углеводородных и гетероциклических составляющих нефтепродуктов
3	Происхождение	Биосорбент на основе комплекса штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов и адсорбента из глауконитового концентрата Бондарского месторождения Тамбовской области.
4	Действующие вещества	Штаммы бактерий <i>Pseudomonas yamanorum</i> VKM В-3033D, дрожжей <i>Rhodotorula glutinis</i> VKM Y-2998D, микроводорослей <i>Chlorella vulgaris</i> IPPAS C-2024, глауконитовый концентрат БМТО.
5	Химический класс	алюмосиликаты
6	Концентрация	Эффективное соотношение штаммов защищено ноу-хау, исходный титр от 10^8 до 10^{10} живых клеток/г. (в зависимости от вида микроорганизма).
7	Сфера применения	Очистка от нефтезагрязнений почвы, грунтов, донных отложений, нефтешламов.
8	Способ применения	Поверхностное внесение.
9	Время применения	Любое время года при температуре воздуха от -5°C до $+40^{\circ}\text{C}$; температуре воды от $+1^{\circ}\text{C}$ до $+30^{\circ}\text{C}$
10	Норма расхода	В зависимости от концентрации и характера загрязнения: для почв и грунтов - от 5 до 40 кг/га, для нефтешламов – от 1 до 4 кг/м ³ , для воды – от 0,2 до 0,4 кг/м ³ .
11	Количество обработок	Кратность обработки - в зависимости от концентрации загрязнения от 1-го до 3-х раз. При кратном применении интервал между обработками 1,3-2,5 недели.

Биосорбент «ГЕОЛЕКС» нетоксичен для человека, теплокровных животных, растений в нормах, рекомендуемых методическими указаниями по применению, не горюч, не образует токсичных соединений в процессе утилизации загрязнений, пожаро- и взрывобезопасен, в соответствии с ГОСТ 12.1.044-89 не регламентируется. По показателям вирулентности, диссеминации, токсичности и токсигенности является не патогенным для человека и теплокровных животных. Экологически безопасен, не является источником загрязнения.

При соблюдении обычных правил гигиены и техники безопасности безвреден для людей и окружающей среды.

		Фамилия	Подпись	Дата	Телефон
Представил	04	Мешкело С.М.		19.12.2017	8(8212)270118
Заполнил	05	Мешкело С.М.		15.12.2017	8(912)8670118
Зарегистрировал	06	Сидурова О.В.		19.12.2017	8(8212) 44-17-62
Ввел в каталог	07	Сидурова О.В.		19.12.2017	8(8212) 44-17-62

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ
 ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
 «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕГИОНАЛЬНЫЙ
 ЦЕНТР СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ
 И ИСПЫТАНИЙ В РЕСПУБЛИКЕ КОМИ»
ЗАРЕГИСТРИРОВАН
КАТАЛОЖНЫЙ ЛИСТ ПРОДУКЦИИ
 № 015/001060 Дата 19.12.2017

УТВЕРЖДАЮ
 Начальник Сыктывкарской
 механизированной дистанции
 погрузочно-разгрузочных работ
 и коммерческих операций
 ОАО «РЖД»,
 Северная дирекция по управлению
 терминально-складским комплексом

2017 г.

В.С. Иванов

АКТ

**По результатам опытно-промышленных испытаний
 биопрепарата «БИОТРИН» и биосорбента «ГЕОЛЕКС»**

Настоящим актом зафиксировано:

1. Проведены испытания биопрепарата «БИОТРИН» и биосорбента «ГЕОЛЕКС» на загрязненном отработанным маслом грунте на территории железнодорожного вокзала г. Сыктывкара. Биопрепарат «БИОТРИН» состоит из штаммов бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D (патент РФ 2 615 458), штаммов дрожжей *Rhodotorula glutinis* ВКМ У-2998D, штаммов микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* V. Andr. А1123. Биосорбент «ГЕОЛЕКС» состоит из минеральной основы – глауконитовой породы и иммобилизованными на ней микроорганизмами, входящими в состав биопрепарата «БИОТРИН». Результаты экспериментов отражены в Отчете (Приложение 1).
2. Биорекультивация загрязненного грунта показала эффективность очистки от нефтепродуктов (отработанного масла): при внесении биопрепарата «БИОТРИН» и биосорбента «ГЕОЛЕКС» - снижение содержания нефтепродуктов в грунте составило 34% и 45% за 6 суток, соответственно.
3. Результаты опытно-промышленных испытаний считать положительными.
4. Биопрепарат «БИОТРИН» и биосорбент «ГЕОЛЕКС» могут быть рекомендованы для очистки от нефтепродуктов участков железнодорожного полотна, почв и грунтов.
5. Нормы внесения биопрепарата «БИОТРИН» на нефтезагрязненную площадь рассчитывают исходя из результатов комплексной оценки состояния загрязненных участков, подлежащих очистке.
6. Биосорбент «ГЕОЛЕКС» вносится на загрязненный нефтепродуктами участок до полного впитывания или покрытия масляного пятна или же вносится на загрязненный грунт и перекапывается с грунтом на толщу загрязнения (расчеты исходя из оценки загрязненного участка).

УТВЕРЖДАЮ
Врио директора
Института биологии
Коми НЦ УрО РАН



2017

И.Ф. Чадин

АКТ

**По результатам опытно-промышленных испытаний биопрепарата «БИОТРИН»
биосорбентов «ГЕОЛЕКС», «АКТИВИЛ»**

Настоящим актом зафиксировано:

1. В ходе опытно-промышленных испытаний в роторной установке была проведена очистка загрязненного щебня (щебневого балласта), взятого с железнодорожного полотна депо г. Сыктывкара. В исследованиях были использованы биопрепарат «БИОТРИН», биосорбенты «ГЕОЛЕКС» и «АКТИВИЛ», составляющей которых является симбиоз микроорганизмов – штаммы бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D (патент РФ 2 615 458), штаммы дрожжей *Rhodotorula glutinis* ВКМ Y-2998D, штаммы микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* V. Andr. A1123. Данные экспериментов и аналитического контроля очистки щебневого балласта приведены в Техническом отчете (ПРИЛОЖЕНИЕ 1).
2. Эффективность очистки щебня с помощью биопрепарата «БИОТРИН» составила за 1 час – 97.5%, с помощью биосорбента «АКТИВИЛ» за 5 суток – 98.7%, с помощью биосорбента «ГЕОЛЕКС» за 7 суток – 98%.
3. Микроорганизмы, входящие в состав биопрепарата и биосорбентов постепенно утилизируют отработанную суспензию, не оставляя при этом вторичного загрязнения.
4. Результаты опытно-промышленных испытаний считать успешными.
5. Разработанная биотехнология с применением биопрепарата «БИОТРИН» и биосорбентов «ГЕОЛЕКС», «АКТИВИЛ» рекомендуется промышленным предприятиям для очистки щебневого балласта железнодорожного полотна в целях соблюдения экологической безопасности.

Ответственный исполнитель, к.б.н.

 / Т.Н. Щемелинина

УТВЕРЖДАЮ
 директор ИП «Корчагин»
 С.В. Корчагин

2018 г.

18 ЯНВ 2019



АКТ

По результатам опытно-промышленных испытаний биопрепарата «БИОТРИН» иммобилизованного на минеральном сорбенте (биогеосорбент «ГЕОЛЕКС»)

Настоящим актом зафиксировано:

1. Проведены испытания биопрепарата «БИОТРИН», иммобилизованного на минеральном сорбенте на нефтезагрязненной территории производственного предприятия «ЛангепасНефтеГаз» (Ханте-Мансийский автономный округ).

Биопрепарат «БИОТРИН» состоит из нефтеокисляющих штаммов:

- бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D (патент РФ №2615458);
- дрожжей *Rhodotorula glutinis* ВКМ У-2998D (Патент РФ № 2658134),
- микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* V. Andr. IPPAS С-2024 (заявка на патент № 2018120704),

Штаммы биопрепарата иммобилизованы на минеральную основу глауконитовой породы (биогеосорбент «ГЕОЛЕКС»).

Результаты экспериментов отражены в Отчете.

2. Обработка биогеосорбентом среднезагрязненной нефтепродуктами почвы (3100 мг/кг), приводит к снижению содержания нефтепродуктов на 89 % за 60 суток.
3. Результаты опытно-промышленных испытаний считать положительными.
4. Биогеосорбент может быть рекомендован для очистки от нефтепродуктов почв и грунтов.
5. Нормы внесения биогеосорбента на нефтезагрязненную площадь рассчитывают исходя из результатов комплексной оценки состояния загрязненных участков, подлежащих очистке.



АКТ

**О внедрении технологии очистки почвы с помощью
биогеосорбента «ГЕОЛЕКС»**

Настоящим актом зафиксировано:

1. Проведены рекультивационные работы на территории, загрязненной газOLIном в районе кранового узла на 76 км МК «Новый Уренгой – Сургут» (УТЖУ ООО «Газпром переработка») с использованием биогеосорбента. Биогеосорбент «ГЕОЛЕКС» состоит из штаммов:

- бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D (патент РФ №2615458);
- дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D (Патент РФ № 2658134),
- микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* V. Andr. IPPAS C-2024 (заявка на патент № 2018120704),

иммобилизованных на минеральную основу глауконитовой породы.

Результаты экспериментов отражены в Отчете.

2. Содержание нефтепродуктов превышало уровень допустимого содержания нефтепродуктов (ДОСНП) в верхних горизонтах участков в 2 и более раза. После проведенных рекультивационных мероприятий содержание нефтепродуктов снизилось до норм ПДК. Эффективность очистки составила 97-98 %.

3. Результаты внедренной технологии считать положительными.

4. Биогеосорбент «ГЕОЛЕКС» может быть рекомендован для очистки от нефтепродуктов почв и грунтов.

5. Нормы внесения биогеосорбента «ГЕОЛЕКС» на нефтезагрязненную площадь рассчитывают исходя из результатов комплексной оценки состояния загрязненных участков, подлежащих очистке.

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «ЭкоАльянс»
Корчагин С.В.



«19» декабря 2019 г.

А К Т

О внедрении технологии очистки почвы с помощью
биогеосорбента «ГЕОЛЕКС»

Настоящим актом зафиксировано:

1. Проведены рекультивационные работы на территории, загрязненной нефтепродуктами:
 - В районе города Когалым (ХМАО)
 - в районе города Урай (ХМАО) — 650 км от города Сургута
 - в районе города Лангелас (ХМАО) — 120 км от города Сургута
 - в районе пгт. Ярега (Респ. Коми)с использованием биогеосорбента «ГЕОЛЕКС».
2. Содержание нефтепродуктов превышало уровень допустимого содержания нефтепродуктов (ДОСНП) в верхних горизонтах участков в 2 и более раза. После проведенных рекультивационных мероприятий содержание нефтепродуктов снизилось до норм ПДК.

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «ЭкоАльянс»
Корчагин С.В.



«16» ноября 2020 г.

А К Т

О внедрении технологии очистки почвы с помощью
биогеосорбента «ГЕОЛЕКС»

Настоящим актом зафиксировано:

1. Проведены рекультивационные работы на территории, загрязненной нефтепродуктами:
 - в Новом Уренгое (ЯНАО);
 - в районе поселка Сывдарма (ЯНАО) — 150 км от нового Уренгоя
 - в районе города Урай (ХМАО) — 650 км от города Сургута
 - в районе города Лангепас (ХМАО) — 120 км от города Сургутас использованием биогеосорбента «ГЕОЛЕКС».
2. Содержание нефтепродуктов превышало уровень допустимого содержания нефтепродуктов (ДОСНП) в верхних горизонтах участков в 2 и более раза. После проведенных рекультивационных мероприятий содержание нефтепродуктов снизилось до норм ПДК.



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «ШАРК»

Галеев У.М.

23 ноября 2022 г.

АКТ

О внедрении комплексной технологии очистки почвы с применением трансформированных кородревесных отходов с иммобилизованными микроорганизмами

Настоящим актом зафиксировано:

1. Проведены опытно-промышленные испытания комплексной технологии очистки почвы на территории демонтированного резервуарного парка УПОН ЦППН НШПП «Яреганефть» ООО «ЛУКОЙЛ – Коми».

2. Объектом исследования являлся нефтезагрязненный насыпной грунт – тяжелый суглинок.

3. Применялись инновационные нетоксичные продукты:

– трансформированные кородревесные отходы – хорошо разложенные органические остатки со следующими свойствами: $pH_{(вод.)}$ – 8.15; $pH_{(сол.)}$ – 7.56; массовая доля азота общего – 6300 мг/кг; значения массовой доли подвижных соединений фосфора (в пересчете на P_2O_5) – 7000 мг/кг, калия (в пересчете на K_2O) – 1030 мг/кг, Mg – 3500 мг/кг, Ca – 130 000 мг/кг.

– биопрепарат «БИОТРИН» – альго-бактериально-дрожжевой консорциум (бактерии *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D, дрожжи *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* IPPAS C-2024) (Заключение ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России» по токсиколого-гигиенической оценке «БИОТРИН» консорциум штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов от 25.05.2017 г.)

– биогеосорбент ГЕОЛЕКС® (Экологический сертификат соответствия № ЕСО.RU.0001.ЭГК39068 от 16.04.2021 г.).

4. Выполнены микробиологические, биохимические анализы в лаборатории биохимии и биотехнологии и агрохимические анализы в экоаналитической лаборатории (Аттестат аккредитации РОСС RU.0001.511257) Института биологии Коми НЦ УрО РАН.

5. Содержание нефтепродуктов в почве до проведения опытно-промышленных испытаний составляло 16 000 мг/кг. После проведенных рекультивационных мероприятий содержание нефтепродуктов составило 510 мг/кг. Эффективность очистки – 95 %.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2615458

**Штамм бактерий *Pseudomonas уатапогит* ВКМ В-3033D
для активизации биодеструкции нефти и нефтепродуктов
в воде, а также в масляных грунтах на участках железной
дороги**

Патентообладатель: *Российская Федерация в лице Общества с
ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС" (ООО
"БИОЭКОБАЛАНС") (RU)*

Авторы: *Мешкело Сергей Марьянович (RU), Щемелинина
Татьяна Николаевна (RU), Анчугова Елена Михайловна (RU),
Маркарова Мария Юрьевна (RU), Желудкова Светлана
Валерьевна (RU)*

Заявка № 2016139425

Приоритет изобретения 08 октября 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 04 апреля 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 08 октября 2036 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2658134

Штамм дрожжей *Rhodotorula glutinis* для очистки нефтезагрязненных почв, водоемов и сточных вод от нефтяных углеводородов, в том числе для окисления полиароматических соединений

Патентообладатель: **Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС" (ООО "БИОЭКОБАЛАНС") (RU)**

Авторы: **Мешкело Сергей Марьянович (RU), Щемелинина Татьяна Николаевна (RU), Маркарова Мария Юрьевна (RU), Анчугова Елена Михайловна (RU)**

Заявка № 2016126521

Приоритет изобретения **02 июля 2016 г.**

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **20 июня 2018 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **02 июля 2036 г.**



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Излиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2703499

Штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* V. Andr. для очистки природных водоемов и сточных вод промышленных предприятий

Патентообладатели: *Щемелинина Татьяна Николаевна (RU), Анчугова Елена Михайловна (RU), Гогонин Александр Владимирович (RU), Тарабукин Дмитрий Валерьянович (RU), Шапенков Данила Михайлович (RU)*

Авторы: *с.м. на обороте*

Заявка № 2018120704

Приоритет изобретения 05 июня 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 17 октября 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 05 июня 2038 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев





РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2703500

**Нефтеокисляющий биопрепарат, биосорбент на его основе
и способ его приготовления**

Патентообладатели: *Щемелинина Татьяна Николаевна (RU),
Анчугова Елена Михайловна (RU)*

Авторы: *Щемелинина Татьяна Николаевна (RU),
Анчугова Елена Михайловна (RU)*

Заявка № 2018120922

Приоритет изобретения 06 июня 2018 г.

Дата государственной регистрации в
Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 17 октября 2019 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 06 июня 2038 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2707815

Средство для биодеструкции нефтепродуктов в
загрязненных почвах

Патентообладатели: **ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "БИОЭКОБАЛАНС" (RU),
ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ОСНОВА" (RU)**

Авторы: **Щемелинина Татьяна Николаевна (RU), Корчагина
Юлия Сергеевна (RU), Анчугова Елена Михайловна (RU)**

Заявка № 2019114494

Приоритет изобретения 14 мая 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 29 ноября 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 14 мая 2039 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2711162

**Способ очистки отходов щебневого балласта, применяемого
на железной дороге**

Патентообладатель: **Общество с ограниченной ответственностью
"БИОЭКОБАЛАНС" (RU)**

Авторы: **Некрасова Валентина Николаевна (RU), Щемелинина
Татьяна Николаевна (RU), Анчугова Елена Михайловна (RU)**

Заявка № 2019102645

Приоритет изобретения 30 января 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 15 января 2020 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 30 января 2039 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2764305

**"Способ очистки почв от нефтяных загрязнений
методом гидропосева биосмеси с применением
микроводорослей *Chlorella vulgaris globosa* IPPAS C-
2024"**

Патентообладатели: **ООО "ЭкоАльянс" (RU), ООО
"БИОЭКОБАЛАНС" (RU)**

Авторы: **Корчагина Юлия Сергеевна (RU), Щемелинина
Татьяна Николаевна (RU)**

Заявка № 2021101265

Приоритет изобретения **22 января 2021 г.**

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **17 января 2022 г.**

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **22 января 2041 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

полномочий подписать государственной подписью
Службы по интеллектуальной собственности
подпись: **Иванна Игоревна Петрова**
ИП: 7707083893

Г.П. Илизов





ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**Статьи в рецензируемых журналах, индексируемых Web of Science,
Scopus и ВАК**

1. Киреева, Н. А. Ферментативная и микробиологическая активность загрязненных нефтью глееподзолистых почв на разных стадиях их восстановления / Н. А.Киреева, М. Ю.Маркарова, **Т. Н. Щемелинина**, Г. Ф. Рафикова // Вестник Башкирского университета. – 2006. – №4. – С. 57-60. **(ВАК)**, **цит.: 9.**
2. **Щемелинина, Т. Н.** Диагностирование степени загрязненности почв нефтью по показателям ферментативной активности / **Т. Н. Щемелинина**, Е. И. Новоселова, Н. А. Киреева, М. Ю. Маркарова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2007. – № 75. – С. 432-434. **(ВАК)**, **цит.: 9.**
3. Киреева, Н. А. Биологическая активность загрязненных нефтью и рекультивируемых торфяно-глеевых почв Республики Коми / Н. А. Киреева, Г. Ф. Рафикова, **Т. Н. Щемелинина**, М. Ю. Маркарова // Агрохимия. – 2008. – №8. – С. 68–75. **(ВАК)**, **цит.: 10.**
4. Киреева, Н. А. Оценка эффективности биоремедиации нефтезагрязненных почв с использованием биопрепарата Универсал / Н. А. Киреева, А. С. Григориади, **Т. Н. Щемелинина**, А. Р. Гареева, А. Б. Якупова // Вестник Оренбургского гос. университета. – 2009. – С. 454-455. **(ВАК)**.
5. **Щемелинина, Т. Н.** Влияние микробного и ферментного препаратов на очистку нефтезагрязненных почв / **Т. Н. Щемелинина**, М. Ю. Маркарова, Е. М. Анчугова, С. М. Надежкин, Л. Г. Емельянова.// Изв. Самарского НЦ РАН. – 2013. – Т. 15. – № 3(6). –С. 2035-2039. **(ВАК)**.
6. Мелехина, Е. Н. Восстановительные сукцессии биоты в торфяной почве с нефтяным загрязнением при различных методах биологической рекультивации / Е. Н. Мелехина, М. Ю. Маркарова, **Щемелинина Т.Н.**, Е. М. Анчугова, В. В. Канев // Почвоведение. 2015. № 6. С. 740-750. DOI: 10.7868/S0032180X15060076 **(WoS/Scopus)**, **цит.: 22.**

7. Anchugova, E. M. Approaches to the assessment of the efficiency of remediation of oil-polluted soils / E. M. Anchugova, E. N. Melekhina, M. Yu. Markarova, **T. N. Shchemelinina** // Eurasian Soil Science. – 2016. – Vol. 49. – No. 2. – P. 234–237. DOI: [10.1134/S1064229316020022](https://doi.org/10.1134/S1064229316020022) (**WoS, IF=1.374**), **цит.: 13**.
8. **Shchemelinina, T. N.** Microfungal strains—potential lipid producers for biodiesel / **T. N. Shchemelinina**, N. V. Matistov, V. A. Kovaleva, M. Yu. Markarova, I. V. Gruzdev, V. V. Volodin, E. M. Anchugova // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2017. – V. 53. – P. 441–447. DOI: [10.1134/S0003683817040135](https://doi.org/10.1134/S0003683817040135) (**WoS, IF=1.065**). **Цит.: 5**.
9. Tarabukin, D. V. Biosorbents based on esterified starch carrying immobilized oil-degrading microorganisms / D. V. Tarabukin, M. A. Torlopov, **T. N. Shchemelinina**, E. M. Anchugova, N. N. Shergina, E. I. Istomina, V. A. Belyy // Journal of Biotechnology. – 2017. Vol. 260. – P. 31-37. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2017.08.024](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.08.024) (**WoS, IF=3.595**), **цит.: 11**.
10. **Shchemelinina, T. N.** Bioconversion of oil sludge into biomass of lipid metabolites for use as a source of biofuel / **T. N. Shchemelinina**, N. V. Matistov, M. Yu. Markarova, E. M. Anchugova // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 107 (2018) 012074 DOI: [10.1088/1755-1315/107/1/012074](https://doi.org/10.1088/1755-1315/107/1/012074) (**Scopus, SJR=0.202**).
11. **Shchemelinina, T. N.** Clay- and zeolite-based biogeosorbents: modelling and properties / **T. N. Shchemelinina**, L. A. Gömze, O. B. Kotova, J. E. F. M. Ibrahim, D. A. Shushkov, M. Harja, G. V. Ignatiev, E. M. Anchugova // Épitőanyag – Journal of Silicate Based and Composite Materials. – 2019. – Vol. 71. – No. 4. – P. 131–137. DOI: [10.14382/epitoanyag-jsbcm.2019.23](https://doi.org/10.14382/epitoanyag-jsbcm.2019.23) (**WoS/Scopus**), **цит.: 13**.
12. **Shchemelinina, T. N.** Modeling of the contour water flooding technology in microcosms / **T. N. Shchemelinina**, E. M. Anchugova, E. M. Lapteva, R. S. Vasilevich, M. Yu. Markarova, E. N. Glazacheva, M. V. Uspenskaya // Eurasian Soil Science. – 2020. – V. 53. – P. 230–239. DOI: [10.31857/S0032180X20020112](https://doi.org/10.31857/S0032180X20020112) (**WoS, IF=1.374**), **цит.: 7**.
13. **Shchemelinina, T. N.** The analcime-bearing rock immobilized microalgae:

- stress resistance, psychrotolerance, phenol removal / **T. N. Shchemelinina**, E. M. Anchugova, O. B. Kotova, D. A. Shushkov // *Bioresource Technology*. 2021. – V. 322. – 124560. DOI:[10.1016/j.biortech.2020.124560](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124560) (WoS, IF=11.889). цит.: 8.
14. **Shchemelinina, T. N.** Petroleum sludge as a feedstock for the microbial biodiesel production: emerging prospects / **T. N. Shchemelinina**, E. M. Anchugova, M. Yu. Markarova, K. G. Ufimtsev, I. V. Beshley // *Waste and Biomass Valorization*. – 2023. – V. – 14. – P. 903–913. DOI:[10.1007/s12649-022-01894-8](https://doi.org/10.1007/s12649-022-01894-8) (WoS, IF=3.449).
15. **Щемелинина Т. Н.** Комплексная биотехнология очистки нефтезагрязнённой почвы / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова // *Поволжский экологический журнал*. – 2023. – № 2. – С. 246-256. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2023-2-246-256> (ВАК, Scopus).

Монографии

16. Барсегян, А. Г. Экологическое нормирование и управление качеством почв и земель: монография / А. Г. Барсегян, В. М. Гендугов, Г. П. Глазунов, В. С. Горбатов, А. С. Горленко, Е. Л. Воробейчик, М. В. Евдокимова, Л. П. Капелькина, Е. И. Ковалева, Н. А. Кузнецова, Н. Н. Левицкая, О. А. Макаров, М. Ю. Маркарова, И. А. Мартыненко, О. Е. Медведева, С. М. Надежкин, И. О. Плеханова, Л. С. Пономарева, Т. В. Прокофьева, Т. В. Решетина, Т. М. Самухина, А. П. Сизов, А. В. Смагин, В. А. Терехова, Р. П. Титарев, С. Я. Трофимов, А. С. Фрид, А. А. Чендева, Т. В. Черненкова, **Т.Н. Щемелинина**, А. С. Яковлев; под общ. ред. С. А. Шобы, А. С. Яковлева, Н. Г. Рыбальского. – Москва: НИИ-Природа, 2013. – 310 с. цит.: 35.

Статьи, опубликованные в прочих изданиях

17. **Щемелинина, Т. Н.** Новые тренды в механизмах повышения производительности материалов на минеральной основе / **Т. Н. Щемелинина**, О. Б. Котова, М. Хария, Е. М. Анчугова, И. Пеловский, И. Кретеску // *Вестник ИГ Коми НЦ УрО РАН*. – 2017. – №6. – С.40-42.
18. **Щемелинина, Т. Н.** Цеолитовое и глинистое сырье: экспериментальное моделирование биогеосорбентов / **Т. Н. Щемелинина**, О. Б. Котова, Е. М. Анчугова, Д. А. Шушков, Г. В. Игнатьев // *Вестник ИГ Коми НЦ УрО РАН*. –

2018. – № 9. – С. 50-57.

19. **Shchemelinina, T. N.** Why mineral carriers are needed for microalgae / **T. N. Shchemelinina**, E. M. Anchugova, O. B. Kotova, S. SUN, D. A. Shushkov, A. V. Gogonin, N. V. Likhanova, O. M. Zueva, Yu. S. Korchagina // Vestnik of Geosciences. – 2020. – No. 2. – P. 25-29.

Патенты

20. **Патент РФ 2556126**, МПК C12N 1/12. Питательная среда Люка для культивирования микроводорослей [Текст] / Михайлюк А. В., Щемелинина Т. Н., Анчугова Е. М. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук. – № 2014100232/10 ; заявл. 09.01.2014. ; опубл. 10.07.2015, Бюл. **цит.: 3**.
21. **Патент РФ 2615458**, C12N 1/20, C02F 3/34, C02F 101/32, B09C 1/10, C12R 1/38. Штамм бактерий *Pseudomonas yamanorum* ВКМ В-3033D для активизации биодеструкции нефти и нефтепродуктов в воде, а также в масляных грунтах на участках железной дороги [Текст] / Мешкело С. М., **Щемелинина Т. Н.**, Анчугова Е. М., Маркарова М. Ю., Желудкова С. В. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС". – № 2016139425 ; заявл. 08.10.2016. ; опубл. 4.04.2017, Бюл. № 10. – 6 с. **цит.: 4**.
22. **Патент РФ 2658134**, МПК C12N 1/16, C12N 1/26, C02F 3/34, B09C 1/10, СПК C12N 1/16, C12N 1/26, C02F 3/34, B09C 1/10. Штамм дрожжей *Rhodotorula glutinis* для очистки нефтезагрязненных почв, водоемов и сточных вод от нефтяных углеводородов, в том числе для окисления полиароматических соединений [Текст] / Мешкело С. М., **Щемелинина Т. Н.**, Маркарова М. Ю., Анчугова Е. М. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС". – № 2016126521 ; заявл. 02.07.2016. ; опубл. 20.06.2018, Бюл. № 17. – 5 с. **цит.: 1**.
23. **Патент РФ 2703499**, МПК C12N 1/12, C02F 3/34, C12R 1/89, СПК C12N 1/12, C02F 3/34, C12R 1/89. Штамм микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f.

- globosa* V. Andr. для очистки природных водоемов и сточных вод промышленных предприятий [Текст] / **Щемелинина Т. Н.**, Анчугова Е. М., Гогонин А. В., Тарабукин Д. В., Шапенков Д. М. ; заявитель и патентообладатель Щемелинина Татьяна Николаевна, Анчугова Елена Михайловна, Гогонин Александр Владимирович, Тарабукин Дмитрий Валерьянович, Шапенков Данила Михайлович. – № 2018120704 ; заявл. 05.06.2018. ; опубл. 17.10.2019, Бюл. № 29. – 9 с. ил.
24. **Патент РФ 2774314**, МПК C12N 1/12, C12R 1/89, СПК C12N 1/12. Способ культивирования микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. f. *globosa* V. Andr. ПРАС С-2024 в природных условиях с использованием воды из пруда [Текст] / Турьева М.М., Лужикова С.А., Вальковец О.А., Лиханова Н.В., Щемелинина Т.Н. ; заявитель и патентообладатель Турьева Мария Максимовна, Лужикова Светлана Алексеевна, Вальковец Ольга Александровна, Лиханова Надежда Владимировна, Щемелинина Татьяна Николаевна. – № 2021106546 ; заявл. 14.03.2021. ; опубл. 17.06.2022, Бюл. № 17. – 6 с.
25. **Патент РФ 2703500**, МПК C12N 1/26, C02F 3/34, B09C 1/10, C02F 101/32, C12R 1/38, C12R 1/89, СПК C12N 1/26, C02F 3/34, B09C 1/10, C12R 1/38, C12R 1/89. Нефтеокисляющий биопрепарат, биосорбент на его основе и способ его приготовления [Текст] / **Щемелинина Т. Н.**, Анчугова Е. М. ; заявитель и патентообладатель Щемелинина Татьяна Николаевна, Анчугова Елена Михайловна. – № 2018120922; заявл. 06.06.2018. ; опубл. 17.10.2019, Бюл. № 29. – 14 с. ил. **цит.: 1.**
26. **Патент РФ 2707815**, МПК C12N 1/12, B09C 1/10, C12R 1/89, СПК C12N 1/12, B09C 1/10, C12R 1/89. Средство для биодеструкции нефтепродуктов в загрязненных почвах [Текст] / Щемелинина Т.Н., Корчагина Ю.С., Анчугова Е.М. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС", Общество с ограниченной ответственностью "Основа". – № 2019114494, ; заявл. 14.05.2019. ; опубл. 29.11.2019, Бюл. № 14. – 11 с. ил.

27. **Патент РФ 2711162**, МПК E01B 27/06, B08B 3/08, СПК E01B 27/06, B08B 3/08. Способ очистки отходов щебневого балласта, применяемого на железной дороге [Текст] / Некрасова В. Н., Щемелинина Т. Н., Е. М. Анчугова Е. М. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС". – № 2019102645 ; заявл. 30.01.2019. ; опубл. 15.01.2020, Бюл. № 2. – 10 с. **цит.: 1.**
28. **Патент РФ 2764305**, МПК B09C 1/10, C12N 1/20, СПК B09C 1/10, C12N 1/20. Способ очистки почв от нефтяных загрязнений методом гидропосева биосмеси с применением микроводорослей *Chlorella vulgaris globosa* IPPAS C-2024 [Текст] / Корчагина Ю.С., Щемелинина Т.Н. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "ЭкоАльянс", Общество с ограниченной ответственностью "БИОЭКОБАЛАНС". – № 2021101265 ; заявл. 22.01.2021. ; опубл. 17.01.2022, Бюл. № 2. – 7 с.

Избранные тезисы докладов и материалов конференций

29. Киреева, Н. А. Мониторинг ремедиации нефтезагрязненных почв Республики Коми по ферментативной активности / Н. А. Киреева, М. Ю. Маркарова, **Т. Н. Щемелинина** // Материалы докладов Международной научной конференции «Экология и биология почв: проблемы диагностики и индикации». – Ростов-на-Дону: Ростиздат, 2006. – С.250-252.
30. **Щемелинина, Т. Н.** Активность некоторых ферментов как индикаторов процесса биodeградации нефти в почве / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова // Материалы докладов тринадцатой Молодежной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии». – Сыктывкар, 2006. – С. 282-285.
31. **Щемелинина, Т. Н.** Влияние источника углеродного питания на интенсивность продуцирования ферментов нефтеокисления алканотрофными микроорганизмами / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова // Материалы докладов четырнадцатой Молодежной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии». – Сыктывкар, 2007. – С.299-301.
32. **Щемелинина, Т. Н.** Ферментативная активность фоновых и загрязненных нефтью торфяно-глеевых почв Усинского района Республики Коми / **Т. Н.**

- Щемелинина, М. Ю.** Маркарова, Е. М. Анчугова, И. Э. Шарапова, Н. А. Киреева // Материалы докладов V Всероссийской научной конференции с международным участием «Отражение биогео-антропосферных взаимодействий в почвах и почвенном покрове». – Томск, 2010. – С. 264-267.
33. Мелехина, Е. Н. Долговременный комплексный мониторинг восстановительных сукцессий почвенной биоты в загрязненных нефтью экосистемах Крайней северной тайги / Е. Н. Мелехина, М. Ю. Маркарова, **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова, В. А. Канев // Материалы докладов X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем». – Киров, 2012. – С. 115-116.
34. **Щемелинина, Т. Н.** Влияние биопрепаратов на ферментативную активность в нефтезагрязненной почве / **Т. Н. Щемелинина**, М. Ю. Маркарова, Е. М. Анчугова, Е. Н. Мелехина // Материалы докладов III Международной научно-практической конференции North Charleston «Фундаментальная наука и технологии - перспективные разработки». – USA, 2014. – Т.1. – С. 16-18.
35. **Щемелинина, Т. Н.** Оценка методов рекультивации нефтезагрязненных почв по сводным индексам / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова, М. Ю. Маркарова, Е. Н. Мелехина // Материалы докладов Всероссийской конференции с международным участием «Биотехнология – от науки к практике». – Уфа, 2014. – Т.1. – С. 61-64.
36. **Щемелинина, Т. Н.** Оценка влияния микробного и ферментного препаратов на очистку почв от нефтепродуктов по среднему геометрическому показателю ферментативной активности (GMea) / **Т. Н. Щемелинина**, М. Ю. Маркарова, Д. В. Тарабукин, Е. Н. Мелехина // Материалы докладов Всероссийской научно-практической конференции, посвящено 15-летию кафедры экологии СурГУ «Экология и природопользование в Югре». – Сургут, 2014. – С.101-102.
37. Anchugova, E.M. Biofilter for treatment of oily water effluents / E. M. Anchugova, M. Yu. Markarova, D. V. Tarabukin, V. V. Volodin, **T. N.**

- Shchemelinina** // Nano, Bio and Green – technologies for sustainable future”: proceedings of The 16 international multidisciplinary scientific geoconference SGEM 2016. – Albena, Bulgaria, 2016. – Vol. I. – P. 451 – 457.
38. **Щемелинина, Т. Н.** Утилизация нефтяных шламов с применением микроорганизмов в биомассу липидных метаболитов, используемых в качестве источника биотоплива / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова, Н. В. Матистов, М. Ю. Маркарова // Труды III Международной конференции «Окружающая среда и устойчивое развитие регионов: Экологические вызовы XXI века». – Казань: Изд-во АН РТ, 2017. – С. 499-502.
39. **Shchemelinina, T.** Biogeosorbents for Solving Ecological Problems / **T. Shchemelinina**, O. Kotova, M. Harja, E. Anchugova // 5th International Conference on Competitive Materials and Technology Processes. – Miskolc-Lillafüred, Hungary, 2018. – P. 199.
40. **Щемелинина, Т. Н.** Биопрепарат «БИОТРИН» и биогеосорбент «ГЕОЛЕКС» для очистки грунтов железнодорожного полотна / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова // Материалы докладов Международной научной экологической конференции «Отходы, причины их образования и перспективы использования». – Краснодар : КубГАУ, 2019. – С.353-355.
41. **Щемелинина, Т. Н.** Биопрепарат «БИОТРИН» и биогеосорбент «ГЕОЛЕКС»: от идеи до внедрения / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова // Материалы докладов Международной научно-практической конференции в рамках III Республиканского форума, посвященного Дню Интеллектуальной собственности «Интеллектуальная собственность – будущее Республики Коми». – Сыктывкар, 2019. – С. 422-428.
42. **Shchemelinina, T.** Experimental Modeling of Biogeosorbents / **T. Shchemelinina**, O. Kotova, E. Anchugova, D. Shushkov, G. Ignatyev, M. Markarova // 14th International Congress for Applied Mineralogy (ICAM2019), 2019. – P. 281-285.
43. **Щемелинина, Т. Н.** Биогеосорбент «ГЕОЛЕКС» в очистке нефтезагрязненных почв / **Т. Н. Щемелинина**, Е. М. Анчугова. // Материалы

докладов VI Всероссийской конференции с международным участием. – Уфа, 2019. – С. 349-353.

44. **Щемелинина, Т. Н.** Нефтеокисляющей биогеосорбент «ГЕОЛЕКС» / **Т. Н. Щемелинина, Е. М. Анчугова** // Материалы докладов II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Утилизация отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии». – Киров: ВятГУ, 2020. – С.317-320.