

УДК 504.53

DOI [https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3\(491-492\).20](https://doi.org/10.15589/znp2023.2-3(491-492).20)

## TECHNOLOGICAL STAGES OF BIOREMEDIATION OF SOILS CONTAMINATED BY PETROLEUM PRODUCTS ON THE BASIS OF MICROORGANISMS OF THE GENUS *BACILLUS*

### ТЕХНОЛОГІЧНІ ЕТАПИ БІОРЕМЕДІАЦІЇ ЗАБРУДНЕНИХ НАФТОПРОДУКТАМИ ҐРУНТІВ НА ОСНОВІ МІКРООРґАНІЗМІВ РОДУ *BACILLUS*

**Ganna G. Trokhymenko**

ganna.trokhymenko@nuos.edu.ua

ORCID: 0000-0002-0835-3551

**Vladyslav M. Nedoroda**

nedorodavlad@gmail.com

ORCID: 0000-0002-1046-5114

**Г. Г. Трохименко,**

докт. техн. наук, професор

**В. М. Недорода,**

аспірант

*Admiral Makarov National University of Shipbuilding, Mykolayiv**Національний університет кораблебудування імені адмірала Макарова, м. Миколаїв*

**Abstract. Purpose.** Development of the primary technological stages in the bioremediation of contaminated soils based on the generalization and analysis of data from published studies and results from own experiments.

**Methods.** During the experiments, the following methods were used: 1. Bioindication methods: the phytotoxicity of synthetically polluted soil was assessed using native controls as a bioassay of a sample with plant test systems in a laboratory setting; 2. Mathematical statistical methods were used for analysis and to assess the dependability of the obtained results; 3. Separation techniques: the effectiveness of petroleum hydrocarbon destruction was evaluated using specialized equipment for gas chromatographic analysis of sample fractional composition.

**Results.** The presented work proposes a biological technique for bioremediation of oil sludge and oil-contaminated soils. Specifically, by introducing the composition of previously tested oil-oxidizing bacteria of the *Bacillus* strain. It is also suggested that organic fertilizers based on fulvic acids be used as catalysts for oil destruction processes and that meliorant based on straw be used as a disintegrant to improve the soil mixture's aeration processes.

**Scientific novelty.** Proposals for optimizing standard bioremediation systems are presented, as are the main stages of the technology, such as site preparation, plant planting conditions, the possibility of mixing the soil mixture, the use and recirculation of fertilizers, system monitoring, humidity, temperature, aeration, and soil reuse.

**Practical significance.** The proposed approach reduces the environmental impact of the oil production industry by restoring disturbed lands or soils contaminated with oil and oil products. The results obtained from the interaction of biosurfactant and plant-based remediation with petroleum and related compounds can be considered as independent scientific interest and they may also be regarded as potential introducers for use in bioremediation and phytoremediation technologies.

**Key words:** microorganisms, biodegradation, bioremediation, biotechnology, oil products, soil remediation.

**Анотація. Мета.** Розробка основних технологічних етапів біореємедіації забруднених ґрунтів на основі узагальнення та аналізу результатів власних експериментів та літературних даних.

**Методика.** У ході експериментів були використані: 1. Біоіндикаційні методи – визначення фітотоксичності штучно забрудненого ґрунту проведено за допомогою нативного контролю у вигляді біотестування зразків рослинними тест-системами у лабораторних умовах; 2. Методи математичної статистики використовувалися для аналізу і оцінки достовірності отриманих результатів; 3. Апаратні методи застосовано для оцінки ступеня деструкції нафтових вуглеводнів, які здійснювалась із використанням спеціалізованого обладнання для проведення газохроматографічного аналізу фракційного складу зразків.

**Результати.** У представленій роботі наведено технологічні етапи біореємедіації нафтошламових сумішей та нафтозабруднених ґрунтів біологічним методом, а саме за допомогою внесення протестованої у дослідженні композиції біопрепарату нафтоокиснювальних бактерій роду *Bacillus*. Також у якості каталізатору процесів

нафтодеструкції запропоновано використовувати органічні добрива на основі фульвокислот, а у якості розпушувача для покращення аераційних процесів ґрунтосуміші – меліорант на основі соломи.

**Наукова новизна.** У статті представлено інноваційні пропозиції щодо оптимізації стандартних біоремедіаційних систем, розглянуто основні складових технології, такі як облаштування ділянки, умови висадження рослин, можливість перемішування ґрунтосуміші, використання і рециркуляція добрив, моніторинг системи, вологість, температура, аерація та повторне використання ґрунту.

**Практична значимість.** Реалізація запропонованого підходу дозволяє зменшити техногенне навантаження з боку нафтовидобувної промисловості на довкілля у результаті відновлення порушених земель чи ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами. Отримані результати взаємодії бактерій-деструкторів та рослин-фіторемедіантів з нафтою та нафтопродуктами становлять самостійний науковий інтерес, а також дозволяють розглядати їх як потенційних інтродуцентів для використання у технологіях біодоповнення та фіторемедіації.

**Ключові слова:** мікроорганізми, біодеградація, біоремедіації, біотехнології, нафтопродукти, відновлення ґрунтів.

### ПОСТАНОВКА ЗАДАЧІ

Нафта – це одна з найбільш використовуваних горючих корисних копалин у сучасному світі, саме тому нафтова промисловість – галузь, що дуже динамічно розвивається [1, с. 114]. Постійно зростаючі обсяги видобутку, транспортування та зберігання нафти призводять до інтенсифікації забруднення земель, екологічні наслідки якого можуть бути критичними як для людини, так і для природних екосистем [2, с. 381; 3, с. 75]. Також у багатьох великих містах розвинених країн, окрім нафтопереробної, зосереджено підприємства машинобудівної, хімічної, металургійної, електротехнічної, суднобудівної, харчової та інших галузей промисловості, які споживають нафтопродукти та розчинники у вигляді палива, мастил, промивних рідин тощо [4, с. 96; 5, с. 47]. На таких підприємствах утворюється велика кількість нафтовмісних відходів, при цьому підвищення темпів виробництва лише посилює небезпеку, а накопичення такого типу відходів є серйозною екологічною проблемою [6, с. 11].

Загалом, поточні стратегії обробки нафтових шламів поділяються на дві групи: фізико-хімічні та біологічні методи [7, с. 17]. Серед фізико-хімічних методів у залежності від мети методу виділяють три підгрупи. Якщо метою є утилізація безпосередньо нафтошlamу, використовується захоронення. Друга підгрупа фокусується на зменшенні або усуненні нафтового шlamу, такі методи включають спалювання, окиснення та капсулювання. Остання підгрупа включає методи відновлення нафти з шlamу, щоб її можна було повторно використовувати. У цьому випадку застосовуються центрифугування, піроліз, мікрохвильове опромінення, заморожування/розморожування чи пінна флотація [8, с. 133]. З іншого боку, основною метою групи біологічних методів є зменшення або усунення навантаження на екосистему органічних або неорганічних компонентів нафтошlamу. Тому використовуються методи біоремедіації, такі як біореактори з мікроорганізмами, біодоповнення, фітостимуляція чи фіторемедіація [9, с. 65]. Вибір методу переробки та знешкодження

нафтових шламів, в основному, залежить від кількості нафтопродуктів, що містяться у шlamі.

Хоча значущість усіх вищезгаданих способів очищення ґрунтів важко переоцінити, зазначимо, що більшість методів мають обмеження у застосуванні, пов'язані з типом ґрунтів та порід, видом та інтенсивністю забруднень, температурними погодними умовами [10, с. 118]. Інші недостатньо ефективні або за суттю є не очищенням, а локалізацією та консервуванням забруднень. Деякі методи досить ефективні, але наслідком їх застосування є зміна властивостей і структури нафтошlamу [11, с. 109].

### АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ПУБЛІКАЦІЙ

Вирішення проблем збереження навколишнього середовища від антропогенного навантаження потребує постійного розвитку практик ефективного господарського механізму раціонального природокористування. Так, у розвитку підходів мікробіологічної рекультивациі нафтозабруднених ґрунтів Sattar S. та Ramirez D. було показано що виробництво універсального біопрепарату (консорціуму мікроорганізмів, спеціально створених для виконання завдань біоремедіації) наразі вважається неможливим з декількох причин: по-перше, нафта з різних районів відрізняються за фракційним і композиційним складом; по-друге, практика біоремедіації має справу не лише з забрудненням нафти, а й з забрудненням нафтопродуктами, хімічні властивості яких дуже відрізняються від вихідної нафти; по-третє, райони видобутку, переробки та зберігання нафти і нафтопродуктів суттєво відрізняються один від одного за природно-кліматичними та гідротермічними умовами [12, с. 9; 13, с. 107].

Також слід зазначити, що незважаючи на перспективність застосування препаратів для мікробіологічної рекультивациі, надкористувачі часто ставляться до подібних технологій скептично через їх відносно високу вартість та вузький діапазон застосування [14, с. 25]. Отже, рекультивациі ґрунтів із застосуванням мікробних препаратів-нафтодеструкторів є дуже

складним та неоднозначним за результативністю процесом, ефективність якого залежить від великої кількості чинників: кліматичних, орографічних, технологічних (аерація) тощо. Об'єктивні складнощі, що супроводжують застосування мікробних препаратів-біодеструкторів обумовлені, в першу чергу, умовами зростання та життєдіяльності мікроорганізмів, що входять до їхнього складу [15, с. 61]. Як показано у роботах Leeson A. та Hinchee R., дихальні тести *in situ* можуть бути якісним інструментом як попереднього тестування, так і моніторингу працюючої системи [16, с. 121]. Також, Orchard V.A. та Cook F.J. встановили прямий зв'язок між мікробною активністю ґрунту та вмістом вологи в стендових масштабних випробуваннях; зменшення вмісту вологи призводить до зниження активності мікробів, а повторне зволоження викликає значне та швидке зростання активності [17, с. 449].

#### ВІДОКРЕМЛЕННЯ НЕВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ

Одним з обмежувачів ефективності методики біоремедіації є висока токсичність нафти та нафтошламів, гідрофобність та низька біодоступність забруднювача у разі його присутності у ґрунтосуміші [18, с. 92]. Тому постійно проводяться дослідження біодеградаційних процесів вуглеводнів та вдосконалення технологій біоремедіації, до таких відносяться підбір консорціумів бактерій, які будуть відповідати вимогами утилізації відходів з окремих нафтових родовищ; використання стійких до нафтового забруднення рослин; дослідження і реалізація процесів фітостимуляції та біостимуляції [19, с. 74]. Chun-Xiao Liu та Qiu-Man Xu була отримана висока ефективність біодеградації з використанням органічних добрив та консорціуму *Bacillus clausii* t. та *Bacillus amyloliquefaciens* hm618. Ефективність біодеструкції становила 76,6% та 88,9%, відповідно, що було кращим, ніж ефективність чистої культури *Bacillus clausii* t. У цій роботі нафтопродукти видалялись переважно за допомогою біотрансформації, а не поглинанням та гідролізом. Також автори стверджують, що використання даного консорціуму зменшувало токсичність дослідженого субстрату, оскільки загальна токсичність продуктів біотрансформації була нижчою, ніж у первинних сполук. Зазначається, що деметилювання, гідроксилювання та зневоднення, ймовірно, є основними механізмами біотрансформації у даному випадку [20, с. 83].

Потрібно враховувати, що точний молекулярний склад сильно змінюється від родовища до родовища, але частка більшості хімічних елементів коливається в досить вузьких межах. Тому, зазвичай у літературі згадується, що найкращим варіантом є використання конкретного консорціуму мікроорганізмів для нафтошлему з конкретного

родовища [21, с. 19]. Саме в такому випадку може спостерігатися висока ефективність нафтодеструкції унаслідок високої активності та адаптації мікроорганізмів.

#### МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Попередні роботи [22-24] були сконцентровані на біологічних методах поводження з нафтою та нафтопродуктами, було розглянуто ефективність використання бактерій роду *Bacillus*, рослин фіторемедіантів та добрив на основі фульвокислот у системах оздоровлення ґрунту та деструкції нафти та нафтопродуктів. Таким чином, **метою представленої роботи** є розробка основних технологічних етапів біоремедіації забруднених ґрунтів на основі узагальнення та аналізу результатів власних експериментів та значної кількості опрацьованих літературних даних.

#### МЕТОДИ, ОБ'ЄКТ ТА ПРЕДМЕТ ДОСЛІДЖЕННЯ

У ході експериментів із визначення ефективності мікроорганізмів *Bacillus* було використано біопрепарати на основі штамів *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *Plantarum* (НШ-2), *Bacillus amyloliquefaciens* (НШ-3) та *Bacillus subtilis* (НШ-4) у концентрації 4%. У початкових дослідях було використано систему біотестування: у штучно підготовлені ґрунти (забрудненні нафтошламом на рівні 50-70%) висаджували насіння (не менше 40-50 штук) різних рослинних тест-систем. У якості біоіндикаторів використовували наступні рослини: Суданська трава (*Sorghum bicolor* subsp. *Drummondii*), Тимофіївка лучна (*Phleum pratense*), Козлятник (*Galéga officinális*), Конюшина лучна (*Trifolium pratense*), Люцерна посівна (*Medicágo satíva*), Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*).

У подальшому була досліджена можливість застосування різних добавок, що збагачують ґрунт біогенними елементами і сприяють приживлюваності, росту та активності рослинно-мікробних асоціацій. Ефективність біодеградації вуглеводнів у зразках оцінювали за допомогою газохроматографічного аналізу фракційного складу ґрунту. У якості обладнання використовували газовий хроматограф «Цвет-500».

У ході робіт також проводилось дослідження впливу соломи як меліоранту на процес біодеградації нафтопродуктів. Експерименти у даному випадку проводились впродовж такого самого періоду за однакових умов навколишнього середовища, як і в попередніх дослідях.

#### ОСНОВНИЙ МАТЕРІАЛ

У початкових експериментах результати біотестування показали, що біопрепарат на основі мікроорганізмів *Bacillus* зменшує негативний вплив забруднення нафтопродуктів на проростання рослин (табл. 1). Отримані результати підтверджують, що біопрепарат

має високу ефективність при концентрації нафтошляму 50%, але при цьому підвищення вмісту нафтового забруднення спричиняє гостру токсичну дію на рослини, незважаючи на присутність мікроорганізмів-нафтоструктурів.

**Таблиця 1.** Загальний фітотоксичний ефект забрудненого ґрунту при використанні нафтоструктурів, %

Рослинна тест-система	Концентрація нафтошляму	
	50%	70%
<i>Sorghum bicolor subsp. Drummondii</i>	26.45	71.91
<i>Phleum pratense</i>	14.92	100
<i>Galéga officinális</i>	19.86	81.05
<i>Trifolium pratense</i>	46.73	100
<i>Medicágo satíva</i>	48.16	100
<i>Sinapis arvensis</i>	24.32	70.27

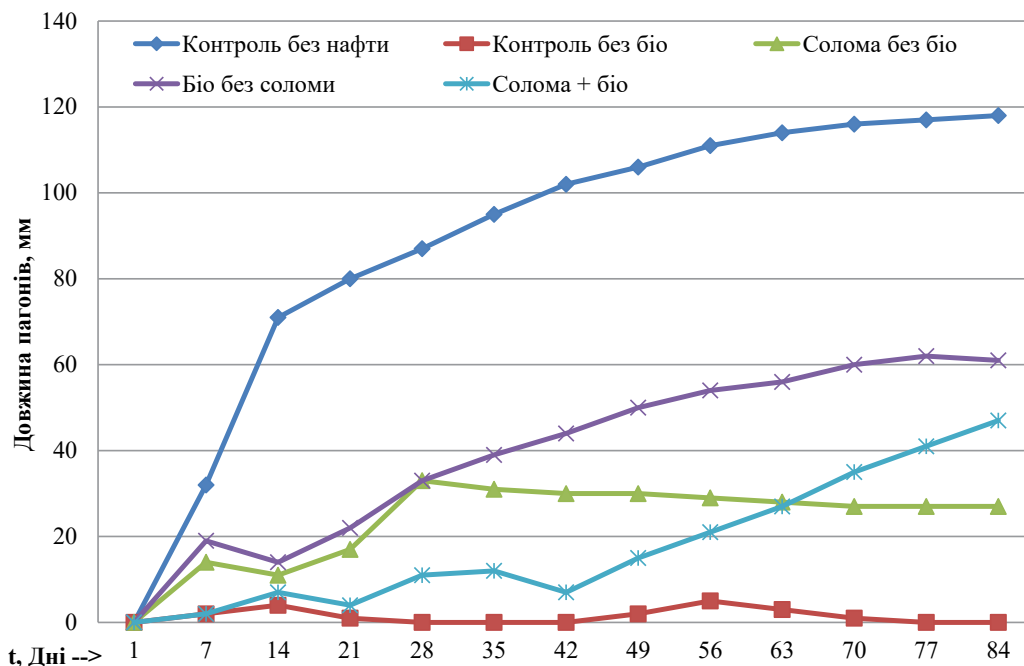
У подальшому був проведений порівняльний хроматографічний аналіз ступеня деградації нафтопродуктів у ґрунті з мікробіологічним консорціумом у поєднанні з різними рослинними тест-культурами. Аналіз зразків фракційного складу ґрунту, забрудненого нафтошлямом (табл. 2), дозволив виявити якісні та кількісні зміни рівня забруднення та ряд загальних закономірностей впливу вуглеводнів. Результати газохроматографічного аналізу високої роздільної здатності зразків нафтозабруднених ґрунтів показують різний ступінь деградації нафти.

**Таблиця 2.** Загальна маса нафтопродуктів у зразках різних типів, мг/кг

Тип зразків	Концентрація нафтошляму	
	50%	70%
Стартові зразки	51168	58024
Без використання біопрепарату	49920	52976
З використанням біопрепарату	37440	47904
З використанням біопрепарату та фульвокислот	37200	37992

Подальше тестування соломи у якості фітомеліоранту свідчить про позитивний вплив на мікробіоту нафтозабрудненого ґрунту, проте ступінь виразності впливу був неоднаковим у різних випадках. Сам біопрепарат активніше, ніж солома, стимулював зниження фітотоксичності, у тому числі і за рахунок активних мікроорганізмів, здатних розкласти вуглеводні. Важливим є також те, що хоч солома і може виступати як економічно вигідна альтернатива біопрепарату, вона, тим не менш, не показує симбіотичного ефекту у разі комбінативного використання, як у випадку з фульвокислотами. Динаміка росту (рис. 1) була різною при різних умовах забруднення ґрунтів та при різних концентраціях меліоранту.

При аналізі результатів, зображених на графіку, спостерігається активне проростання насіння у контрольних зразках без використання біопрепарату. Потрібно відмітити, що подібні результати відсутні у попередніх дослідженнях. Це свідчить про



**Рис. 1.** Проростання рослин в умовах нафтового забруднення (50% нафтошляму) при використанні нафтоструктурів та соломи

ефективність додавання соломи в ґрунт, що створює кращі умови для кругообігу речовин у ґрунтосуміші. Тим не менш, як і у попередніх експериментах, на початку процесу спостерігається масова загибель молодих рослин. Подібний ефект підтверджує попередні висновки про те, що фітотоксичний ефект пов'язаний не стільки з фізичними властивостями ґрунту, скільки з проникненням нафтових вуглеводнів до рослин під час вегетаційного періоду. Цей ефект добре спостерігається у варіантах з соломою, у якості фігомеліоранту, але за відсутності мікроорганізмів-нафтодеструкторів. Оскільки первинна фітотоксична дія обумовлена в основному легкими фракціями нафти – їх ефект швидко ослаблюється, але без біодоповнення бактеріями *Bacillus* фітотоксичність помітно не знижується. Внаслідок цього рослини піддаються стагнації та засихають.

Також треба зазначити, що високий вміст концентрації нафтошламу, навіть при додаванні біопрепарату у концентрації 4%, призводить до унеможливлення пророщування насіння. Так, при 70% вмісту нафтошламу росту насіння із тест-систем не спостерігалось. Можна зробити висновок, що хоч солома і виступає якісним меліорантом, проте, зі збільшенням концентрації нафтошламу зменшуються її позитивний вплив.

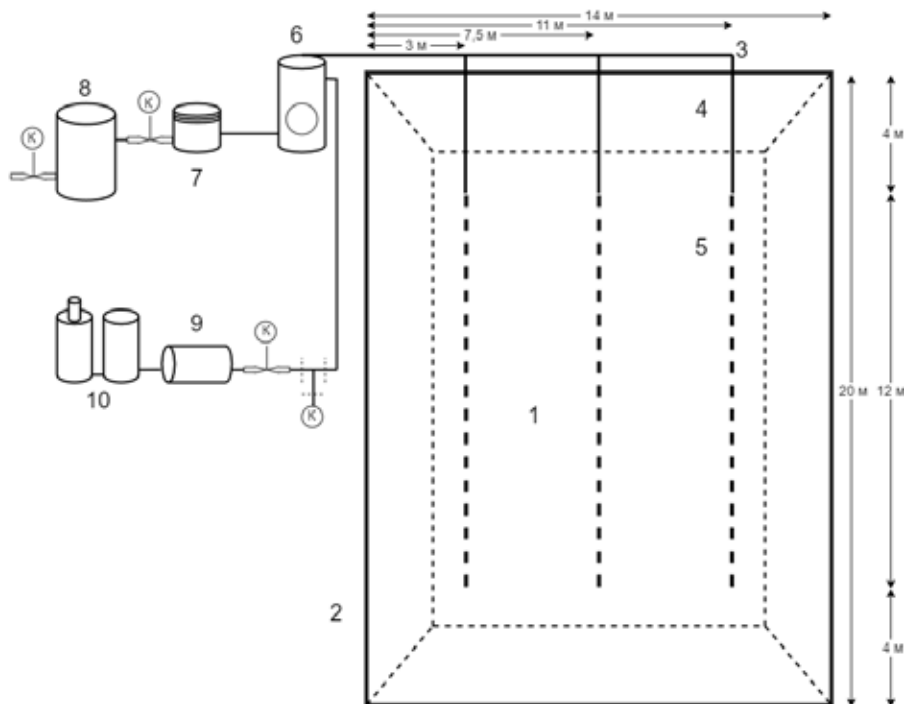
Таким чином, основним засобом для здійснення процесу знешкодження у запропонованій

технологічній схемі є бактеріальний препарат, отриманий на основі природного штаму бактерій *Bacillus*. Процес заснований як на дії самих внесених із препаратом мікроорганізмів, так і на стимуляції активності місцевих мікроорганізмів за рахунок можливої додаткової стимуляції у вигляді добрив та подальшого висівання рослин.

На початковому технологічному етапі біоремедіації планується підготовка ділянки площею відповідно до масштабів можливої обробки. На вирівняній ділянці споруджуються бар'єри (2, рис. 2) для визначення меж системи та запобігання горизонтальних розливів нафтошламу. Межі системи укріплюються, щоб запобігти деформації під час експлуатації ділянки.

Конструкція очисної ділянки планується таким чином, щоб враховувати можливість висіву рослин в умовах ізоляції від навколишнього ґрунтового покриву, а також необхідності дренажу та аерації для підтримання життєдіяльності мікроорганізмів-нафтодеструкторів.

Ґрунтосуміш складається на ділянці таким чином, щоб наблизитися не до пірамідальної форми, а скоріше бути плоскою на поверхні, оскільки це – місце можливого подальшого висадження рослин. Забруднений нафтопродуктами ґрунт необхідно очистити від сторонніх включень (деревини, пластмаси, сміття, великих каменів та ін.). При легких і пухких оброблюваних матеріалах ділянки



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



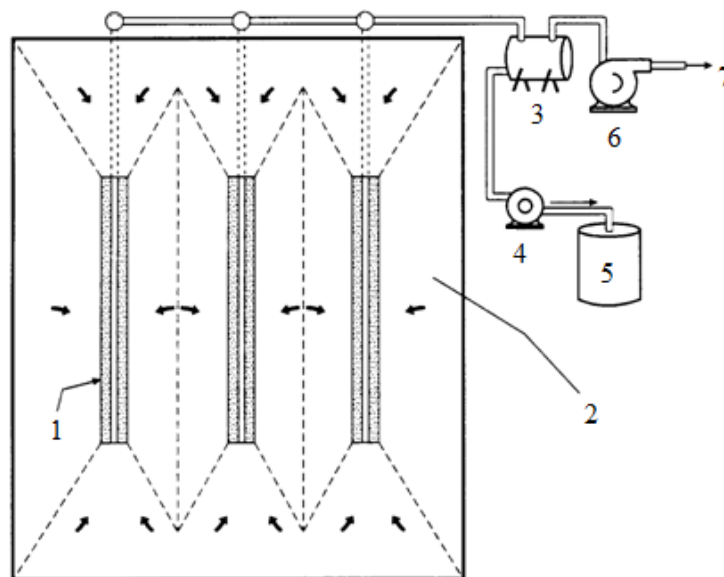
додають субстрат для збільшення щільності суміші, при дуже важких, щільних і глинистих ґрунтах – навпаки. Перемішування гарантує зберігання вибраного співвідношення компонентів та оптимальне збагачення киснем.

У такому методі інтенсивного біологічного очищення від забруднення нафтопродуктами умови для життя введених мікроорганізмів оптимізують таким чином, що розкладання вуглеводнів здійснюється за 12–24 місяці. Особлива увага при цьому приділяється виду, вологовмісту й гідрології ґрунту, вмісту в ньому живильних речовин і мікроелементів, визначенню параметрів шкідливих речовин та їхньої кількості, а також визначенню величини рН і наявності бактеріологічної отрути і речовин, які сповільнюють, блокують діяльність мікроорганізмів або перешкоджають їй. Періодично відбирають проби, контролюють і регулюють надходження води, вміст кисню й поживних речовин.

Оскільки вплив вологості на біодеградацію є досить важливим, управління оптимальними умовами вологості під час обробки нафтошляму може підвищити загальну ефективність. Попередні дослідження також показали лінійну залежність між мікробним утворенням  $\text{CO}_2$  і вмістом вологи, незалежно від типу ґрунту, хоча при цьому умови екстремальної вологості є несприятливими для мікробного росту та метаболізму, так само як і для багатьох рослин [25, с. 311]. Також потрібно передбачати істотну різницю в рівнях вологості ґрунту між експериментальними дослідженнями та реальною системою біодеградації, оскільки вологість майже неможливо стабільно контролювати у великому масштабі.

Як правило, дно біомайданчика ущільнюють не лише задля запобігання витоків забруднюючих речовин до верхніх шарів ґрунту та поверхневих вод, але також і для контролю дренажу системи (рис. 3). По горизонтальній поверхні дна укладають плівку з поліетилену високого тиску, а на неї – дренаж у вигляді вафельного полотна. Завдяки цьому полотну поверхневі води рівномірно проходять через біомайданчик. Вафельна структура дренажу забезпечує надійний стік великої кількості води до приймача, звідки вона забирається насосом і знову розприскується по поверхні майданчика.

Додатковим методом у подібній системі дренажу є можливість використання добрив. У експерименті були протестовані добрива на основі фульвокислот, які показали значний вплив на процеси біодеградації при підвищеній концентрації нафтошляму. Використання добрив є досить дорогою процедурою, але збільшення кількості нафтошляму, які водночас проходять процеси переробки та утилізації, може окупити подібні витрати. Загалом схема розраховується таким чином, що будь-яке розчинене добриво, яке могло бути вимите у процесі утилізації, буде повторно введено до ділянки через відстійник і пов'язаний з ним насос, який рециркулює будь-який зібраний фільтрат. Подібним чином може зберігатися і висока концентрація бактерій *Bacillus*, оскільки добрива у фільтраті слугують безперервним джерелом енергії для мікроорганізмів, навіть для тих які знаходяться у процесі перекачки у трубі. Але недоліком такої системи є необхідність підтримувати певну температуру води, що піддається рециркуляції, задля забезпечення виживання мікроорганізмів та збереження ефективності добрив.



**Рис. 3.** Комбінована система аерації та збору стоку рідини (1 – розмежувач; 2 – бетонна площадка з нахилом (1-2%); 3 – сепаратор; 4 – фільтраційний насос; 5 – резервуар; 6 – повітродув; 7 – вихлоп)

Встановлено, що мікробна активність ґрунту значно знижується при температурах нижче 10°C, тоді як максимальна швидкість біодеградації досягається при температурі від 20 до 30°C. Тому проектування, будівництво та експлуатація планується таким чином, щоб система функціонувала у межах цього діапазону температур [26].

Температура ґрунту також змінюється залежно від температури навколишнього середовища, так, протягом року будуть певні періоди, коли ріст бактерій і, отже, розпад вуглеводнів зменшуватимуться через низькі температури. Коли температура навколишнього середовища повернеться до оптимального діапазону росту, активність бактерій поступово відновиться. Це важливий фактор для використання запропонованої технології, оскільки вона враховує розміщення ділянки на відкритому просторі. Зазвичай найбільш важливими засобами моніторингу є трубки для відбору проб газу в купі та термопари для вимірювання температури [27, с. 41].

Підібрані штами бактерій *Bacillus* перетворюють ароматичні й аліфатичні вуглеводні в нешкідливі діоксид вуглецю (CO<sub>2</sub>) і воду (H<sub>2</sub>O). Таке перетворення вуглеводнів відбувається в основному в аеробних умовах. Аераційні процеси є одним з основних обмежувачів кількості нафтошламу, який би піддавався біодеградації одночасно, оскільки при збільшенні масиву необхідно буде встановлювати декілька шарів аераційної системи для адекватної аерації менш пористого ґрунтового середовища. В основі побудованої ділянки встановлюється труба (діаметром 300 мм) за концентричним шаблоном для

безперервної перфорованої аерації (рис. 4). Аераційна труба повинна бути перфорована через кожні 10 см і вся покрита геотекстильним полотном, щоб запобігти засміченню труби ґрунтом. Без аерації концентрація кисню у системі може бути недостатньою для підтримки аеробної деградації нафтових вуглеводнів [28, с. 410].

Експерименти проведені з представленим біопрепаратом показують значне зниження ефективності біодеструкції у разі надвисоких (понад 70%) концентрацій нафтопродуктів. Тому представлена технологія розраховується з необхідністю зменшення стартової концентрації для забезпечення можливості ефективної роботи мікроорганізмів-нафтодеструкторів. Найпростішим методом у такому випадку є використання ґрунтів на прилеглих територіях у якості наповнювача для перемішування. Тому одним з найважливіших моментів для даної технології рекультиваци є можливість повторного використання рекультивованих ґрунтів для нових проектів біоремедіації шляхом перемішування нафтошламу з частиною уже очищених ґрунтів. Так, регенований ґрунт після мікробіологічної обробки може використовуватися у подальшому для перемішування з нафтошламами (рис. 5), оскільки, як правило, повторне використання ґрунту із вмістом вуглеводнів 1000 мг/кг вважається припустимим (навіть ґрунт на вулицях, наприклад, уздовж шосейних магістралей, містить до 2000 мг/кг нафтопродуктів) [29]. Також, ґрунти, які раніше використовувалися для біоремедіації, можуть мати підвищений потенціал розкладання вуглеводнів, який можна успішно використовувати для нових проектів.

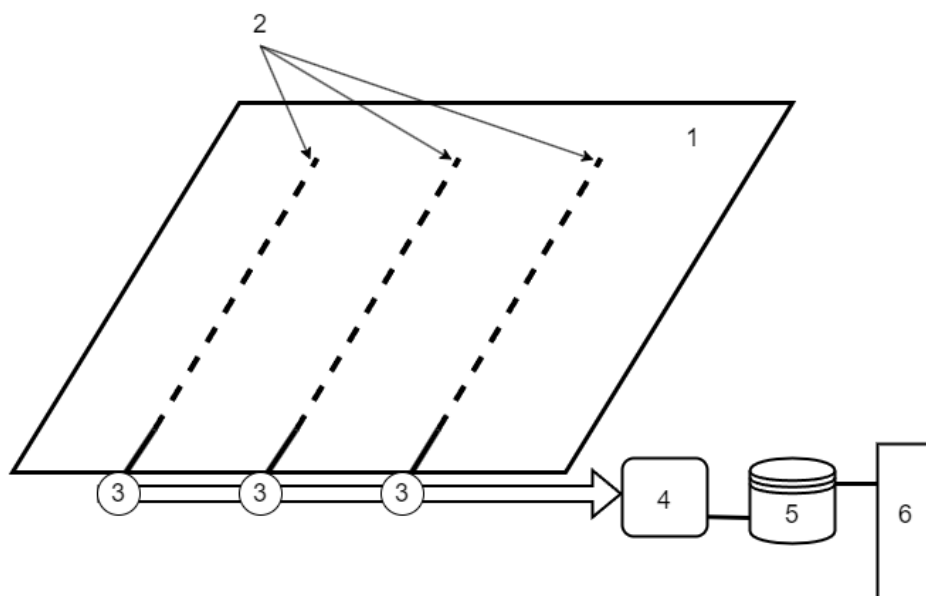
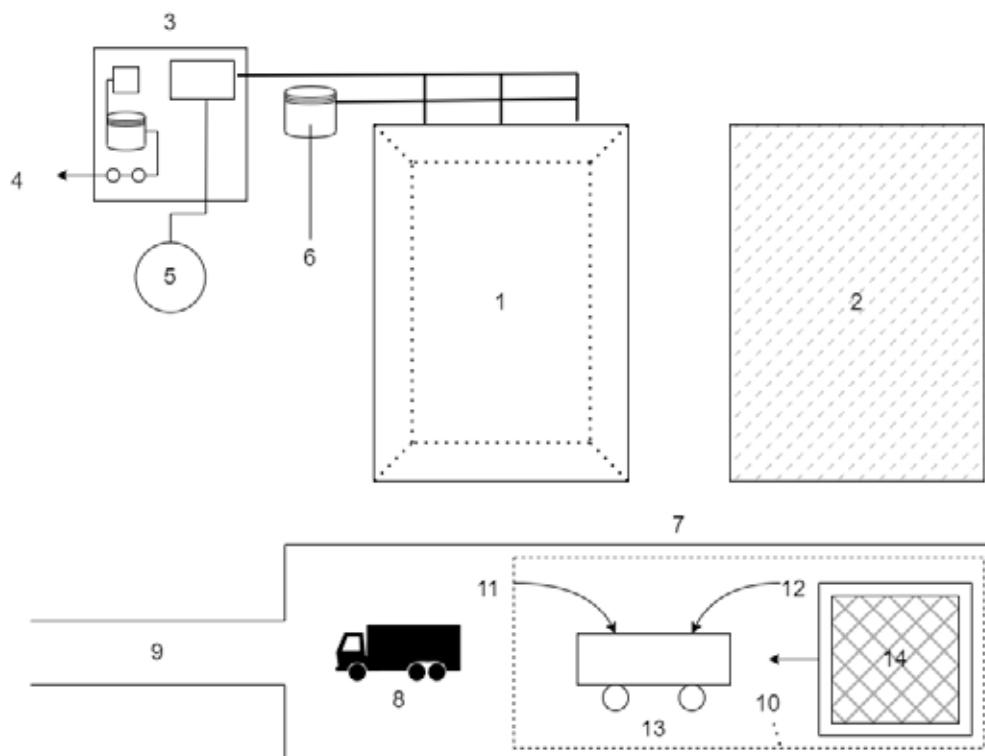


Рис. 4. Розміщення аераційних труб на дні ділянки (1 – дно ділянки; 2 – аераційні труби; 3 – клапани; 4 – сепаратор; 5 – насос; 6 – резервуар)



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

## ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

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

Успіх таких проектів часто залежить від готовності різних регуляторних органів розглядати їх як альтернативу для відповідних підприємств. Існуючі місцеві потреби у реконструкції очисних комплексів чи новій необхідності рекультиватії забруднених ділянок, а також довгострокові потреби в очищенні території можуть бути використані як логічний аргумент для підтримки плану впровадження подібних технологій. Сприйняття громадськістю та урядом екологічних технологій загалом позитивне, а будівництво та експлуатація постійної ділянки значно розширить можливості у обраній області та буде вважатися реальною ініціативою з переробки забрудненого ґрунту.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, біотехнологічний підхід до ремедіації нафтошламів за використанням мікроорганізмів

*Bacillus* можна розглядати як нескладний та надійний процес поводження з нафтовмісними відходами. Подібні системи також мають потенціал для використання спрощених механізмів моніторингу та контролю, забезпечуючи при цьому повноцінну та ефективну технологічну базу для роботи ділянок, виділених під біоремедіацію. Загальні підходи, викладені в цьому дослідженні, дотримуються екологічних принципів і цілей, тобто сприяння сталому розвитку через збереження ґрунту та ініціативи з відновлення. Цілями рекультиватії у зонах накопичення нафтовмісних відходів буде очищення забрудненого ґрунту та нафтошламів безпечним, швидким та ефективним способом. Рекультиватія здатна призвести до опосередкованої вигоди від покращення благоустрою, екологічного стану території та економічної діяльності шляхом усунення забруднення та заохочення використання більш екологічних технологій.

Кожний етап технології може бути використаний як самостійно, так й у комбінації з іншими. Таким чином, дані, отримані в результаті дослідження, також можна використовувати як частину моделі для визначення відповідних стратегій біоремедіації забруднених ґрунтів.



## REFERENCES

- [1] Tang, J., Lu, X., Sun, Q., Zhu, W. (2012). Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 149, pp. 109-117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.12.020> [in English].
- [2] Volkohon, V.V., Nadkernychna, O.V., Tokmakova, L.M. (2010). Eksperymentalna gruntova mikrobiolohiia [Experimental soil microbiology]. Kyiv: Ahrarna nauka. P. 464 [in Ukrainian].
- [3] Prabhakar, M., Neelakanta, S. K., Luiz, R. F. (2023). New insights into the bioremediation of petroleum contaminants. *A systematic review, Chemosphere*, vol. 326, pp. 72-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138391> [in English].
- [4] Giles, H. (2010). *Crude Oils. Significance of Tests for Petroleum Products. Eight ed. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International*, P. 341 [in English].
- [5] Turlough, F. G. (2021). Tactical problems with strategic consequences: A case study of how petroleum hydrocarbon suppliers support compliance and reduce risks in the minerals sector. *Resources Policy*, vol. 74, pp. 39-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resourpol.2021.102310> [in English].
- [6] de Souza, E. S., Fernandes, A. R., de Souza Braz, A. M., Sabino, L. L. L., Alleoni, L. R. F. (2014). Potentially toxic elements (PTEs) in soils from the surroundings of the TransAmazonian Highway. Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol. 187 (1), pp. 1-20. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4074-1> [in English].
- [7] da Silva, L. J., Alves, F. C., de França, F. P. (2012). A review of the technological solutions for the treatment of oily sludges from petroleum refineries. *Waste Management & Research*, vol. 30 (10), pp. 1016-1030. DOI: <https://doi.org/10.1177/0734242X12448517> [in English].
- [8] Mutyala, S., Fairbridge, C., Paré, J. R. J., Bélanger, J. M. R., Ng, S., Hawkins, R. (2010). Microwave applications to oil sands and petroleum: A review. *Fuel Processing Technology*, vol. 91 (2), pp. 127-135. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.09.009> [in English].
- [9] Rizzo, A. C. d. L., dos Santos, R. d. M., dos Santos, R. L. C., Soriano, A. U. (2010). Petroleum-contaminated soil remediation in a new solid phase bioreactor. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 85 (9), pp. 1260-1267. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.2425> [in English].
- [10] USEPA. (2016). Chapter IV: Biopiles. How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers. Washington, DC, USA: United States Environmental Protection Agency. P. 228 [in English].
- [11] Stankevych, V. V. (2012). Hihiiienichni aspekty vprovadzhennia novitnikh sposobiv likvidatsii naftozabrudnen gruntu na prykladi biotekhnolohii «DUKATm» [Hygienic aspects of the implementation of the latest methods of liquidation of soil oil pollution on the example of "DUKATm" biotechnology]. *Hihiiiena naselenykh mists*, vol. 59, pp. 107-113 [in Ukrainian].
- [12] Sattar, S., et al. (2022). Composition, impacts, and removal of liquid petroleum waste through bioremediation as an alternative clean-up technology: A review. *Heliyon*, vol. 8 (10), pp. 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11101> [in English].
- [13] Ramirez, D., Collins, D. C. (2018). Maximisation of oil recovery from an oil-water separator sludge: Influence of type, concentration, and application ratio of surfactants. *Waste Management*, vol. 82, pp. 100-110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.016> [in English].
- [14] Kirieieva, N. A., et al. (2010). Efektyvnist zastosuvannia biopreparativ dlia vidnovlennia rodiuchosti tekhnogenno-zabrudnenykh gruntiv [The effectiveness of the use of biological preparations to restore the fertility of technogenically polluted soils]. *SNTs RAN*, vol. 1 (4), pp. 1023-1026 [in Ukrainian].
- [15] Jer, N. Y., et al. (2022). Recent advances of biosurfactant for waste and pollution bioremediation: Substitutions of petroleum-based surfactants. *Environmental Research*, vol. 212, pp. 55-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113126> [in English].
- [16] Leeson, A., Hincec, R. (2022). Soil Bioventing Principles and Practice. Boca Raton, Lewis Publishers, P. 272. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780138739379> [in English].
- [17] Orchard, V.A., Cook, F.J. (2008). Relationship between soil respiration and soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 15, pp. 447-453. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.012> [in English].
- [18] Celia, F. M., Helen, C. (2015). Biosurfactant microfoam: Application in the removal of pollutants from soil. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 3 (1), pp. 89-94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.12.008> [in English].
- [19] Xiaoli, D., Jing, L., Wenxia, W., Shaohui, G. (2021). Bioremediation of heavy oil contaminated intertidal zones by immobilized bacterial consortium. *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 158, pp. 70-78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.11.038> [in English].
- [20] Liu, C.X., Xu, Q.M., Yu, S.C., Cheng, J.S., Yuan, Y.J. (2020). Bio-removal of tetracycline antibiotics under the consortium with probiotics *Bacillus clausii* T and *Bacillus amyloliquefaciens* producing biosurfactants. *Science Total Environmental*, vol. 7 (10), pp. 81-86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136329> [in English].
- [21] Noor, M. J., et al. (2022). Challenges in the implementation of bioremediation processes in petroleum-contaminated soils: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, vol. 18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100694> [in English].
- [22] Trokhymenko, G. G., Nedoroda, V. M., Stepova, O. V. (2022). Otsinka efektyvnosti *Bacillus Subtilis* pry bioremediatsii naftozabrudnenykh gruntiv za dopomohoiu biotestuvannia [Evaluation of the effectiveness of *Bacillus Subtilis* in the bioremediation of oil-contaminated soils using bioassays]. *Podolannia ekolohichnykh ryzykiv ta zahroz dlia dovkillia v umovakh nadzvychainykh sytuatsii – 2022*. pp. 133-145. DOI: <https://doi.org/10.23939/monograph2022> [in Ukrainian].

- [23] Trokhymenko, G. G., Nedoroda, V. M. (2023). Analiz destruktivnoho potentsialu mikroorhanizmiv rodu *Bacillus* u kombinatsii z fulvokyslotamy dlia ryzodehradatsii naftovykh vuhlevodniv [Analysis of the destructive potential of microorganisms of the genus *Bacillus* in combination with fulvic acids for the rhizodegradation of petroleum hydrocarbons]. *Naukovo-praktychnyi zhurnal «Ekolohichni nauky»*, vol. 1 (46), pp. 85-91. DOI <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2023.eco.1-46.15> [in Ukrainian].
- [24] Nedoroda, V., Trokhymenko, G., Magas, N. (2022). Bioremediation Possibilities of Oil-Contaminated Soil by Biosurfactant Based on *Bacillus* Strain. *Journal of Ecological Engineering*, vol. 23 (8), pp. 49-55. DOI: <https://doi.org/10.12911/22998993/150672> [in English].
- [25] Wang, X., Wang, Q., Wang, S. (2012). Effect of biostimulation on community level physiological profiles of microorganisms in field-scale biopiles composed of aged oil sludge. *Bioresource Technology*, vol. 111, pp. 308–315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.158> [in English].
- [26] Wang, Q., et al. (2022). Thermally enhanced bioremediation: A review of the fundamentals and applications in soil and groundwater remediation. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 433. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128749> [in English].
- [27] Hesnawi, R.M., McCartney, D. M. (2006). Impact of compost amendments and operating temperature on diesel fuel bioremediation. *Journal of Environmental Engineering and Science*, vol. 5 (1), pp. 37-45. DOI: <https://doi.org/10.1139/s05-015> [in English].
- [28] Van De Steene, J., Van Vooren, H., Verplancke, H. (2007). Evaluation of a quasi-steady-state respiration test in a full-scale biopile. *Water Air Soil Pollution*, vol. 183, pp. 403–413 [in English].
- [29] Makadia, T. H., Adetutu, E. M., Simons, K. L., Jardine, D., Sheppard, P. J., Ball, A. S. (2011). Re-use of remediated soils for the bioremediation of waste oil sludge. *Journal of Environmental Manage*, vol. 92, pp. 866–871. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.059> [in English].

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- [1] Tang, J., Lu X., Sun, Q., Zhu, W. (2021). Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Vol. 149. P. 109-117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.12.020>
- [2] Волкогон, В.В., Надкернична, О.В., Токмакова, Л.М. (2010). Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія; за ред. В.В. Волкогона. Київ: Аграрна наука. 464 с.
- [3] Prabhakar, M., Neelakanta, S. K., Luiz, R. F. (2023). New insights into the bioremediation of petroleum contaminants. *A systematic review, Chemosphere*. Vol. 326. P. 72-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138391>
- [4] Giles, H. (2010). Crude Oils. Significance of Tests for Petroleum Products. *Eight ed. West Conshohocken, PA, USA: ASTM International*. 341 p.
- [5] Turlough, F. G. (2021). Tactical problems with strategic consequences: A case study of how petroleum hydrocarbon suppliers support compliance and reduce risks in the minerals sector. *Resources Policy*. Vol. 74. P. 39-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resourpol.2021.102310>
- [6] de Souza, E. S., Fernandes, A. R., de Souza Braz, A. M., Sabino, L. L. L., Alleoni, L. R. F. (2014). Potentially toxic elements (PTEs) in soils from the surroundings of the TransAmazonian Highway. *Brazil, Environmental Monitoring and Assessment*. Vol. 187 (1). P. 1-20. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4074-1>
- [7] da Silva, L. J., Alves, F. C., de França, F. P. (2012). A review of the technological solutions for the treatment of oily sludges from petroleum refineries. *Waste Management & Research*. Vol. 30 (10). P. 16-30. DOI: <https://doi.org/10.1177/0734242X12448517>
- [8] Mutyalala, S., Fairbridge, C., Paré, J. R. J., Bélanger, J. M. R., Ng, S., Hawkins, R. (2010). Microwave applications to oil sands and petroleum: A review. *Fuel Processing Technology*. Vol. 91 (2). P. 127-135. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.09.009>
- [9] Rizzo, A. C. d. L., dos Santos, R. d. M., dos Santos, R. L. C., Soriano, A. U. (2010). Petroleum-contaminated soil remediation in a new solid phase bioreactor. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. Vol. 85 (9). P. 60-67. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.2425>
- [10] USEPA. (2016). Chapter IV: Biopiles. How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites: A Guide for Corrective Action Plan Reviewers. *Washington, DC, USA: United States Environmental Protection Agency*. 228 p.
- [11] Станкевич, В. В. та ін. (2012). Гігієнічні аспекти впровадження новітніх способів ліквідації нафтозабруднень ґрунту на прикладі біотехнології «ДУКАТм». *Гігієна населених місць*. № 59. С. 107-113.
- [12] Sattar, S., et al. (2022). Composition, impacts, and removal of liquid petroleum waste through bioremediation as an alternative clean-up technology: A review. *Heliyon*. Vol. 8 (10). P. 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11101>
- [13] Ramirez, D., Collins, D. C. (2018). Maximisation of oil recovery from an oil-water separator sludge: Influence of type, concentration, and application ratio of surfactants. *Waste Management*. Vol. 82. P. 100-110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.016>
- [14] Кіреєва, Н. А. та ін. (2010). Ефективність застосування біопрепаратів для відновлення родючості техногенно-забруднених ґрунтів. *СНЦ РАН*. № 1 (4). С. 1023-1026.
- [15] Jer, N. Y., et al. (2022). Recent advances of biosurfactant for waste and pollution bioremediation: Substitutions of petroleum-based surfactants. *Environmental Research*. Vol. 212. P. 55-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113126>

- [16] Leeson, A., Hinchee, R. (2022). Soil Bioventing Principles and Practice. *Boca Raton, Lewis Publishers*. P. 272. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780138739379>
- [17] Orchard, V.A., Cook, F.J. (2008). Relationship between soil respiration and soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 15. P. 447-453. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.012>
- [18] Celia, F. M., Helen, C. (2015). Biosurfactant microfoam: Application in the removal of pollutants from soil. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. Vol. 3 (1). P. 89-94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.12.008>
- [19] Xiaoli, D., Jing, L., Wenxia, W., Shaohui, G. (2021). Bioremediation of heavy oil contaminated intertidal zones by immobilized bacterial consortium. *Process Safety and Environmental Protection*. Vol. 158. P. 70-78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.11.038>
- [20] Liu, C.X., Xu, Q.M., Yu, S.C., Cheng, J.S., Yuan, Y.J. (2020). Bio-removal of tetracycline antibiotics under the consortium with probiotics *Bacillus clausii* T and *Bacillus amyloliquefaciens* producing biosurfactants. *Science Total Environmental*. Vol. 7 (10). P. 81-86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136329>
- [21] Noor, M. J., et al. (2022). Challenges in the implementation of bioremediation processes in petroleum-contaminated soils: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. Vol. 18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100694>
- [22] Трохименко, Г. Г., Недорода, В. М., Степова, О. В. (2022). Оцінка ефективності *Bacillus Subtilis* при біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів за допомогою біотестування. Подолання екологічних ризиків та загроз для довкілля в умовах надзвичайних ситуацій – 2022: колективна монографія, за ред. М. С. Мальований, О. В. Степова. С. 133-145 DOI: <https://doi.org/10.23939/monograph2022>
- [23] Трохименко, Г. Г., Недорода, В. М. (2023). Аналіз деструктивного потенціалу мікроорганізмів роду *Bacillus* у комбінації з фульвокислотами для ризодеградації нафтових вуглеводнів. *Науково-практичний журнал «Екологічні науки»*. № 1 (46). С. 85-91. DOI <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2023.eco.1-46.15>
- [24] Nedoroda, V., Trokhymenko, G., Magas, N. (2022). Bioremediation Possibilities of Oil-Contaminated Soil by Biosurfactant Based on Bacillus Strain. *Journal of Ecological Engineering*. Vol. 23 (8). P. 49-55. DOI: <https://doi.org/10.12911/22998993/150672>
- [25] Wang, X., Wang, Q., Wang, S. (2012). Effect of biostimulation on community level physiological profiles of microorganisms in field-scale biopiles composed of aged oil sludge. *Bioresource Technology*. Vol. 111. P. 308–315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.158>
- [26] Wang, Q., et al. (2022). Thermally enhanced bioremediation: A review of the fundamentals and applications in soil and groundwater remediation. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 433. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128749>
- [27] Hesnawi, R.M., McCartney, D. M. (2006). Impact of compost amendments and operating temperature on diesel fuel bioremediation. *Journal of Environmental Engineering and Science*. Vol. 5 (1). P. 37-45. DOI: <https://doi.org/10.1139/s05-015>
- [28] Van De Steene, J., Van Vooren, H., Verplancke, H. (2007). Evaluation of a quasi-steady-state respiration test in a full-scale biopile. *Water Air Soil Pollution*. Vol. 183. P. 403–413.
- [29] Makadia, T. H., Adetutu, E. M., Simons, K. L., Jardine, D., Sheppard, P. J., Ball, A. S. (2011). Re-use of remediated soils for the bioremediation of waste oil sludge. *Journal of Environmental Manage*. Vol. 92. P. 866–871. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.059>

© Трохименко Г. Г., Недорода В. М.

Дата надходження статті до редакції: 08.06.2023

Дата затвердження статті до друку: 23.06.2023