

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
ГЕОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Морозов Андрей Васильевич

**Взаимодействие компонентов в системе «загрязненный песчаный
грунт – растение» при фитотестировании**

Специальность 1.6.21. Геоэкология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата геолого-минералогических наук

Научные руководители:
кандидат геолого-минералогических наук,
доцент Григорьева Ия Юрьевна

кандидат технических наук
Гладченко Марина Анатольевна

Москва – 2025

Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Особенности системы «загрязненный песчаный грунт – растение».....	11
1.1. Подход к рассмотрению взаимодействия компонентов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение»	11
1.2. Компоненты системы «загрязненный песчаный грунт – растение»	15
1.3. Обоснование возможных взаимодействий и процессов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение»	19
Выводы к главе 1	21
Глава 2. Распространение и характер загрязнения песчаных грунтов в пределах районов нефтедобычи	23
2.1. Распространение и использование песчаных грунтов в пределах нефтедобывающих районов	23
2.2. Особенности веществ-загрязнителей песчаных грунтов на территориях нефтедобычи ..	26
Выводы к главе 2	28
Глава 3. Фитотестирование и его применение в экологической геологии.....	29
3.1. История развития и перспективы применения фитотестирования как метода экотоксикологической оценки уровня загрязнения грунтовых систем	31
3.2. Анализ эффективности применения высших растений для фитотестирования песчаных грунтовых систем	37
Выводы к главе 3	42
Глава 4. Механизм взаимодействия зерен песчаного грунта с используемыми веществами-загрязнителями	43
4.1. Особенности взаимодействия кварцевых зерен с водой	43
4.2. Особенности взаимодействия раствора хлорида натрия (NaCl) с песчаной грунтовой системой	47
4.3. Особенности взаимодействия углеводородного загрязнения с песчаной грунтовой системой	51
4.4. Особенности взаимодействия комбинированного загрязнения с песчаной грунтовой системой	56
Выводы к главе 4	59
Глава 5. Характеристика объектов исследования	61
5.1. Характеристика используемых песчаных грунтов.....	61

5.2. Характеристика используемых тест-культур	79
5.3. Характеристика используемых загрязняющих веществ.....	83
Выводы к главе 5	87
Глава 6. Методика экспериментального исследования системы «загрязненный песчаный грунт – растение».....	89
6.1. Создание моделей загрязненного песчаного грунта	91
6.2. Методика определения содержания подвижных форм кремнезема.....	93
6.3. Методика определения показателей биотических свойств исследуемых песчаных грунтов.....	94
6.3.1. Методика определения ферментативной активности	95
6.3.2. Методика определения общей численности микроорганизмов	98
6.4. Методика проведения фитотестирования	99
Выводы к главе 6	106
Глава 7. Результаты экспериментальных исследований взаимодействия компонентов системы «загрязненный песчаный грунт – растение»	107
7.1. Изменение влажностных характеристик исследуемых грунтовых моделей при проведении фитотестирования.....	107
7.2. Результаты фитотестирования и определения показателей биотических свойств загрязненных песчаных грунтов и их анализ	112
Выводы к главе 7	121
Глава 8. Закономерности функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при фитотестировании.....	123
Выводы к главе 8	132
Заключение	135
Список литературы	139
Приложение 1. Блок-схема планшетного аппликатного фитотестирования.....	153
Приложение 2. Журнал планшетного аппликатного фитотестирования (примеры).....	154
Приложение 3. Планшетное аппликатное фитотестирование, характерные фотоизображения	156
Приложение 4. Статистическая обработка результатов планшетного аппликатного фитотестирования методом ANOVA	158

Введение

Актуальность

Возрастающее техногенное воздействие на компоненты природной среды, связанное с активным развитием промышленности, приводит к закономерному увеличению количества и усложнению состава потенциально токсичных загрязняющих веществ. Следует иметь в виду, что в общем виде загрязнение – это поступление в окружающую природную среду любых твердых, жидких и газообразных веществ, микроорганизмов или энергий в количествах, вредных для здоровья человека, животных, состояния растений и экосистем [77]. Иными словами, наличие загрязнения в анализируемой среде следует оценивать по уровню его биологической значимости, т.е. по степени влияния на живые организмы (биоту).

Ввиду своего широкого распространения наиболее подверженными загрязнению теми или иными опасными веществами являются дисперсные грунты. Однако, в тоже время дисперсные грунтовые системы являются одним из наиболее сложных и слабоизученных объектов при оценке уровня и биологической значимости загрязнения. Для адекватной оценки влияния как состава, так и концентрации загрязняющих веществ необходимо принимать во внимание возможность взаимодействия компонентов грунтовых систем с загрязнителями, которые и будут определять степень их воздействия на биоту.

В свою очередь, песчаные грунты, в силу большой площади распространения и высоких фильтрационно-емкостных свойств [63, 64] характеризуются определенной спецификой поведения и влияния загрязнителей, содержащихся в них, на биоту. Как правило, песчаные грунты наиболее часто подвергаются загрязнению при добыче и транспортировке, а также при использовании нефти и нефтепродуктов. Это связано, в первую очередь, с широким их распространением на территории нефтепромыслов и активным использованием при технологическом обустройстве кустовых площадок, нефтедобывающих скважин [5, 27, 53]. Кроме того, большинство нефтешламов представлено, как правило, именно песчаными грунтами. На территориях нефтепромыслов ввиду особенностей добываемых полезных ископаемых и технологического процесса добычи реализуется сложное многокомпонентное загрязнение дисперсных грунтов. Помимо непосредственно углеводородного, по данным многочисленных исследований [65, 73], на данных территориях будет широко распространено солевое загрязнение.

С целью получения представления о биологической значимости загрязнения, на сегодняшний день, постепенно входят в практику методы биотестирования. В общем виде под биотестированием понимается процедура установления токсичности среды с помощью тест-организмов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком

сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у этих организмов. Определенные преимущества в доступности тест-культур и методиках исследования имеет фитотестирование, основанное на использовании высших растений. Однако, ввиду усложнения состава загрязнения и разнообразия объектов исследования не всегда возможно однозначно интерпретировать результаты фитотестирования.

Получение представления о механизме влияния многокомпонентного загрязнения на растения возможно с позиций системного подхода, на основе экспериментального моделирования. Определяя закономерности и механизмы взаимодействия компонентов в системе песчаного грунта, веществ-загрязнителей и живых организмов, можно получить наиболее достоверное представление о биологической значимости того или иного вида загрязнения.

Степень разработанности

Среди отечественных исследователей вопросами био- и фитотестирования занимаются в основном специалисты в области почвоведения и биологии, но из их внимания исключаются грунтовые системы. Грунтовые системы (в отличие от собственно почв) изучены крайне слабо. Вопросам фитотестирования удалено внимание таких исследователей, как: Белова Т.А., Гладкова М.М., Григорьева И.Ю., Костенко Е.А., Куриленко В.В., Лисовицкая О.В., Маячкина Н.Н., Околелова А.А., Попутникова Т.О., Столбова В.В., Терехова В.А., Тимофеева С.С., Федосеева Е.В., Якименко О.С. и других авторов. Среди зарубежных исследователей можно выделить работы Aranda E., Blaise C., Canna-Michaelidou S., Czerniawska-Kusza I., Gorsuch J., Johnson I., Mabon M., Martin M., Neopfytou E., Nicolaou A.S., Persoone G., Ruck J.G. и т.д.

Вопросам изучения особенностей углеводородного и комбинированного загрязнения почв (как одного из видов) грунтовых систем также посвящено достаточно большое количество работ, среди которых можно отметить исследования Аренса В.Ж., Зубайдуллиной А.А., Лопатина К.И., Пиковского Ю.И., Саушкина А.З., Солнцевой Н.П., Толстограя В.И., Abbas A., Baig Z., Cherniak L., Lamb D., Lam S., Nalecz-Jawecki G., Naz A., Plaza G., Sarkar B., Wang H. и др.

Однако, несмотря на острую актуальность проблемы, ввиду исключительной ее многоаспектности, многие вопросы, связанные с оценкой биологической значимости углеводородного и комбинированного загрязнения дисперсных грунтов вообще, и песчаных грунтов в частности, с применением методов фитотестирования до сих пор остаются слабоизученными. Также, на сегодняшний день, практически отсутствуют работы, посвященные детальному исследованию механизма взаимодействия компонентов песчаной грунтовой системы при углеводородном и солевом загрязнении, а также изучению закономерностей

функционирования системы «грунт-растение» с базовых позиций грунтоведения при интерпретации результатов фитотестирования.

В связи с этим **целью работы** является покомпонентная характеристика системы «загрязненный песчаный грунт – растение» на горно-породном уровне, выявление процессов взаимодействия компонентов и их влияния на результаты фитотестирования.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**.

1. Анализ литературных сведений об особенностях взаимодействия компонентов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение».
2. Выбор объектов исследования и определение показателей их состава и свойств.
3. Теоретическое обоснование и последующее экспериментальное исследование для раскрытия механизма взаимодействия используемых веществ-загрязнителей с поверхностью песчаных зерен.
4. Оценка изменения показателей биотических свойств песчаных грунтов (ферментативной активности и общей численности микроорганизмов) при фитотестировании.
5. Определение биологической значимости уровня и состава загрязнения песчаных грунтов по результатам фитотестирования с использованием культур высших растений.
6. Выявление закономерностей функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при фитотестировании.

Объект исследования

В качестве объектов исследования использовались песчаные грунты, отобранные на территории различных месторождений и горных выработок, а также песчаный грунт с территории кустовой площадки функционирующего нефтяного месторождения. На основе выбранных песков были приготовлены модели загрязненного песчаного грунта, в качестве загрязнителей использовались дизельное топливо и раствор хлорида натрия ($NaCl$). Биологическими объектами в рамках проведения фитотестирования являлись две тест-культуры высших растений: горчица белая (*Sinapis alba L.*) и сорго сахарное (*Sorghum saccharatum L.*).

Предмет исследования

Изучение закономерностей взаимодействия компонентов и функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при фитотестировании.

Научная новизна

1. На основе существующих теоретических представлений и собственных экспериментальных исследований выявлены особенности физико-химических процессов, происходящих на поверхности песчаных кварцевых зерен при взаимодействии с нефтяными

углеводородами и раствором хлорида натрия ($NaCl$), определяющие биологическую значимость состава и уровня загрязнения.

2. Показано влияние содержания коллоидных частиц аморфного кремнезема и наличия дефектов поверхности зерен кварца на интенсивность физических и физико-химических процессов, протекающих на границе раздела фаз в системе загрязненного песчаного грунта.

3. Впервые для песчаных грунтов определены значения биотических показателей (ферментативной активности и общей численности микроорганизмов), установлены закономерности их изменения при воздействии различных типов загрязнителей, а также в процессе фитотестирования.

4. По результатам фитотестирования комплексного загрязнения (нефтяными углеводородами и раствором хлорида натрия) песчаных грунтов выявлена приоритетная роль солевого загрязнения в проявлении токсического эффекта в отношении используемых тест-культур: горчицы белой (*Sinapis a.*) и сорго сахарного (*Sorghum s.*).

5. Обоснована и экспериментально подтверждена концепция синергетического взаимодействия углеводородного и солевого загрязнений в песчаной грунтовой системе, выражаящаяся в увеличении суммарного токсического эффекта по отношению к тест-культурям используемых высших растений.

Теоретическая и практическая значимость

Для всестороннего учета возможных факторов, влияющих на результаты фитотестирования, загрязненная песчаная грунтовая система вместе с высшим растением должна рассматриваться с учетом базовых позиций грунтоведения и применением системного подхода на горно-породном уровне, вместе с определением возможных механизмов взаимодействия компонентов с вносимыми загрязняющими веществами.

При оценке биологической значимости и степени токсического воздействия углеводородного и солевого загрязнения в песчаных грунтах, необходимо учитывать возможную нелинейную реакцию высших растений, которые одними из первых воспринимают и реагируют на поступление загрязнителя в систему. Определенные закономерности взаимодействия углеводородного и хлоридно-натриевого загрязнений в диапазоне исследуемых концентраций, и их биологическая значимость позволяют сделать вывод о необходимости диагностики в первую очередь солевого загрязнения нефтезагрязненных песчаных грунтов (нефтешламов) для повышения эффективности рекультивационных мероприятий, особенно при реализации их биологического этапа.

Фактический материал

Песчаные грунты были отобраны с территорий: месторождения Люберецкого горно-обогатительного комбината (г. Москва), месторождения «Мураевня» (Рязанская обл.), месторождения «Гора Хрустальная» (Свердловская обл.). Также в рамках полевого сезона 2020 года при работе в составе группы по экологическому обследованию территории нефтегазовых месторождений в Западной Сибири автором был отобран песчаный грунт с кустовой площадки действующего «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения (Нефтеюганский р-он).

В рамках экспериментальных исследований было проведено 850 планшетных фитотестируемых, в ходе которых было высажено 8500 семян культур высших растений. По результатам было измерено и статистически обработано более 17000 единичных показателей морфометрических характеристик семян используемых тест-культур.

При исследовании показателей биотических свойств исследуемых песчаных грунтов, были определены активности ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы, а также проведены количественные определения общей численности микроорганизмов.

Личный вклад автора заключается в отборе и изучении состава и свойств исследуемых песчаных грунтов, экспериментальной оценке содержания в песках аморфного кремнезема. Проведении серии экспериментальных исследований по фитотестированию природных песчаных грунтов при модельном внесении в них различных комбинаций загрязнения; исследованиях по определению показателей биотических свойств песчаных грунтов: общей численности микроорганизмов и ферментативной активности, а также анализе и интерпретации полученных результатов.

Методология и методы исследования

Весь объем проведенных экспериментальных исследований включал в себя определение показателей физических свойств, минерального и химического состава песчаных грунтов, детальные исследования особенностей строения поверхности песчаных зерен; создание моделей одиночно и комплексно загрязнения песчаных грунтов. Отдельный блок исследований был посвящен оценке влажностных характеристик и активности влаги в полученных грунтовых системах, фракционному составу применяемых при загрязнении нефтепродуктов. Основным этапом являлось проведение экотоксикологических исследований, включающих в себя аппликатное планшетное фитотестирование и оценку изменения показателей биотических свойств песчаных грунтов на различных этапах вегетационного эксперимента.

Экспериментальные исследования по созданию и анализу особенностей состава и свойств загрязненных песчаных грунтовых систем были проведены на базе лаборатории «Грунтоведения и технической мелиорации грунтов» кафедры инженерной и экологической геологии

геологического факультета МГУ и испытательной геотехнической лаборатории (ИГЛ) бюро комплексных инженерных изысканий (БКИИ) АО «Атомэнергопроект»; определение содержания подвижной кремнекислоты и показателей биотических свойств проводились на кафедре химической энзимологии химического факультета МГУ на базе научно-исследовательской лаборатории экобиокатализа; дополнительные исследования характера поверхности песчаных зерен проведены в лаборатории Научного центра «Инженерные барьеры» ИГЕМ РАН. Исследования компонентного состава используемых углеводородных загрязнителей и определение показателей активности воды проводились в лаборатории центра добычи углеводородов Сколтеха (Center for Petroleum Science and Engineering, SkolTech). Эксперимент по аппликатному планшетному фитотестированию проводился в лаборатории экотоксикологического анализа почв МГУ («ЛЭТАП») и ИГЛ БКИИ.

Положения, выносимые на защиту

1. Физико-химические взаимодействия компонентов применяемых загрязняющих веществ (нефтяных углеводородов и хлорида натрия) с поверхностью кварцевых зерен в песчаной грунтовой системе определяются содержанием коллоидных частиц аморфного кремнезема. Особенности протекающих физико-химических процессов и взаимодействий определяют биологическую значимость уровня и состава загрязнения.

2. Для мономинеральных кварцевых песчаных грунтов не характерны значимые уровни биологической активности. Уреазная, дегидрогеназная и пероксидазная ферментативные активности в целом находятся на уровне предела обнаружения. Общая численность активных микробных сообществ (ОЧМ) в песчаных грунтах составляет от 0,06 до $4,42 \times 10^7$ кл/кг сух. грунта. Появление ферментативной активности или увеличение ОЧМ свидетельствует о наличии в песчаном грунте тех или иных включений или о существенном уровне антропогенного воздействия на подобную грунтовую систему.

3. При комплексном загрязнении (нефтяными углеводородами и хлоридом натрия) песчаной грунтовой системы наибольшее токсическое воздействие на высшие растения при фитотестировании оказывает солевое загрязнение. Хлоридно-натриевое загрязнение песчаных грунтов, исходно содержащих нефтяные углеводороды (дизельное топливо) в биологически незначимых концентрациях, приводит к возникновению острого токсического эффекта, вызванного синергетическим взаимодействием загрязнителей, в отношении исследуемых высших растений: двудольного – горчицы белой (*Sinapis alba* L.) и однодольного – сорго сахарного (*Sorghum saccharatum* L.) и не зависит от вида применяемых культур.

Степень достоверности работы подтверждается квалифицированным рецензированием публикаций, а также полнотой и представительностью литературного и фактического материала,

полученного в ходе лабораторных исследований; применением современных методов эколого-геологических исследований и их обработкой с использованием современных компьютерных технологий.

Апробация результатов

Результаты и положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных и всероссийских конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, МГУ, 2019, 2020, 2022 гг.); Международная научная конференция молодых ученых «Молодые – Наукам о Земле» (Москва, РГГУ, 2022 г.); Международная молодежная научная школа «Ремедиация почв: инновационные подходы к восстановлению экологических функций» (Москва, МГУ, 2023 г.); Всероссийская научная конференция «XXVI Сергеевские чтения» (Псков, 2025 г.).

Публикации автора по теме диссертации

Основные идеи и положения работы изложены в 3 публикациях (объемом 3,64 п.л., объем вклада соискателя – 1,55 п.л.) в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова по специальности 1.6.21. Геоэкология: «Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геокриология» (2024, №5; 2025, №3) и «Грунтоведение» (2025, № 1(24)), а также в 2 публикациях в иных изданиях: «Грунтоведение» (2022, № 2(19)) и «Отходы и ресурсы» (2023, Т.11, №1).

Структура работы

Диссертационная работа изложена на 159 страницах машинописного текста, состоит из введения, 8 глав, заключения, списка литературы из 152 наименований, а также 4 приложений. Текст содержит 8 таблиц и 61 рисунок.

Благодарности

Основная идея, постановка работы, весь объем теоретических и экспериментальных исследований был выполнен под руководством кандидата геолого-минералогических наук, доцента Григорьевой И.Ю. на кафедре инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ. Экспериментальное определение содержания аморфного кремнезема в исследуемом песчаном грунте и определение показателей биотических свойств проводилось на кафедре химической энзимологии химического факультета МГУ, под руководством кандидата технических наук, старшего научного сотрудника Гладченко М.А. Автор выражает огромную благодарность своим научным руководителям за предоставление условий и материалов для проведения эксперимента, ценные советы, всестороннее внимание и критические замечания в ходе проведения исследований и в процессе написания текста работы.

Глава 1. Особенности системы «загрязненный песчаный грунт – растение»¹

Как известно, грунт представляет собой многокомпонентную динамичную систему, которая находится в тесном взаимодействии с различными экзогенными веществами и биологическими видами, в первую очередь микробными сообществами и высшими растениями. В реальных условиях грунтовые системы подвергаются загрязнению широким спектром токсикантов, и возникающие взаимодействия могут определять итоговый токсический эффект, которому будут подвержены живые организмы [17]. В связи с наличием в системе «грунт-растение» абиотической и биотической компоненты, для наиболее корректного описания, ее следует рассматривать с позиций экосистемного подхода, с учетом последующего экспериментального моделирования. Определяя закономерности и механизмы взаимодействия компонентов в системе песчаного грунта, веществ-загрязнителей и живых организмов, можно получить наиболее достоверное представление о биологической значимости того или иного вида загрязнения.

1.1. Подход к рассмотрению взаимодействия компонентов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение»

Все живые организмы и неживые (абиотические) компоненты среды находятся в постоянном взаимодействии и тесно связаны друг с другом. При рассмотрении подобных совокупностей взаимодействующих объектов непременно будут обнаруживаться энергетические и вещественные потоки обмена между живыми и неживыми компонентами, что по определению соответствует «экологической системе». Стоит отметить, что в рамках данных систем компоненты, которые в них входят, взаимно влияют на свойства друг друга и выполняют необходимые поддерживающие функции для сохранения жизнеспособности организмов и внутреннего экологического баланса. Совокупность этих функционально связанных единиц формирует экосистему Земли, и, следовательно, при решении глобальных экологически ориентированных задач наиболее целесообразно начинать с базового уровня организации подобных систем [60, 80].

Экологические системы всех уровней организации являются открытыми, то есть поток вещества и энергии через границы выделяемой области постоянен (рисунок 1). Интенсивность обмена единичной системы со средой будет определяться множеством факторов: физическими

¹ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные в соавторстве, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

1. Григорьева, И. Ю. Дисперсные грунты как объекты биодиагностики / И. Ю. Григорьева, А. В. Морозов, С. С. Садов // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2024. – № 5. – С. 43-57.
2. Григорьева, И. Ю. Ферментативная активность дисперсных грунтов: стоящие задачи и опыт экспериментальной оценки / И. Ю. Григорьева, М. А. Гладченко, А. В. Морозов // Грунтоведение. – 2025. – № 1(24). – С. 11-26.

условиями (температура, влажность и др.); геохимическими условиями (содержание биофильных химических элементов, водородный показатель (pH) и др.); размерами системы; сбалансированностью процессов жизнедеятельности и др. Причем поток вещества реализуется не только обменом внутри и вне живых компонентов, но и между неживым и живым. Так существуют вещества и химические соединения, которые могут принадлежать только одному из этих компонентов, например, АТФ (аденозинтрифосфат), вещество, которое отвечает за энергетические запасы в живых организмах, не встречается вне живой клетки; напротив – гуминовые вещества, которые являются продуктами разложения органических веществ – никогда не встречаются в живых клетках. Однако, большинство веществ и соединений, определяющих интенсивность жизнедеятельности системы и ее стабильное функционирование, способны перемещаться между компонентами, сохраняя при этом свои свойства.

Стоит учитывать, что экологические системы обладают адаптивной способностью по отношению к изменяющимся условиям среды. Реализация данной функции заключается в саморегуляции интенсивности процессов обмена веществом и энергией, а также адаптации живых организмов, составляющих биотическую компоненту системы [82, 99]. Исходя из этого, абиотические компоненты системы будут регулировать или ограничивать существование живых организмов. Однако, в функциональном смысле живые и неживые части целого тесно связаны друг с другом и образуют единый комплекс, следовательно, обособленное изучение отдельных компонентов без исследования их взаимодействия не будет отвечать базовым принципам «системного» подхода, как методологической основы изучения любых экологических систем.

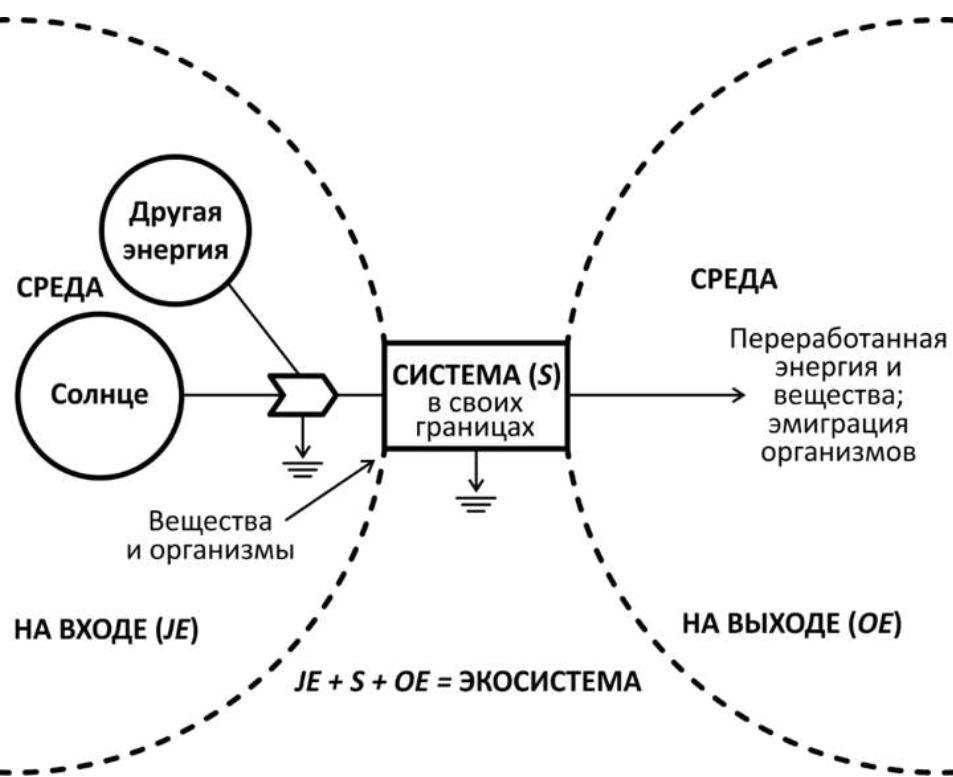


Рисунок 1. Модель строения экологической системы с учетом наличия внешней среды [60]

Таким образом, в настоящем исследовании система «загрязненный песчаный грунт – растение» рассматривается, как открытая динамичная, включающая абиотический (песчаный грунт; используемые загрязнители) и биотический (сообщества микроорганизмов; высшие растения) компоненты, которые связаны непрерывными потоками вещества и энергии.

Подобный подход для исследования закономерностей функционирования систем «грунт-растение» применялся многими авторами, так в исследованиях S. Wu и др. [150], при рассмотрении факторов и механизмов миграции тяжелых металлов в песчаных грунтах и их воздействия на высшие растения, использовалась системная модель, учитывавшая свойства абиотической компоненты (физические и физико-химические свойства грунта), биотической компоненты (биологические особенности реакции различных видов высших растений на загрязнение грунта, изменение активности жизнедеятельности микроорганизмов), а также обмен веществ между компонентами системы (динамика поглощения тяжелых металлов исследуемыми растениями) (рисунок 2). Результаты исследования показали, что токсический эффект, вызываемый наличием тяжелых металлов в системе, зависит не только от их концентрации, но и от обратной связи между биологической активностью ризосфера, составом, и химическими свойствами исследуемого грунта, влияющими на мобильность токсикантов. Еще одним примером может служить работа А.В. Назарова [54], в которой исследовалось влияние нефтяного загрязнения песчаных грунтов на активность микробных сообществ и интенсивность деградации загрязнителей в рассматриваемой системе. По результатам реализации системного подхода в рамках вышеназванного исследования, при котором изучалось изменение гидрофизических и геохимических свойств грунтов, а также влияние загрязнения на активность микробных сообществ были получены устойчивые закономерности влияния нефтяной контаминации песчаных почв на интенсивность процессов биодеградации углеводородов.

Стоит отметить, что в большинстве исследований, посвященных изучению подобных систем [68, 69, 103] используется метод моделирования, причем как экспериментального, так и теоретического (математического). Данный подход обусловлен необходимостью упрощения сложной и многообразной формы взаимодействия живых и неживых компонентов.

Также динамичность рассматриваемой системы усложняет контроль ключевых показателей ее функционирования. Экспериментальное моделирование позволяет выделить наиболее значимые свойства и объекты для изучения, также при таком подходе исследователь может сам задавать границы. В целом, применение модельного подхода направлено на выявление закономерностей взаимодействия компонентов и прогнозирование функционирования системы при условии изменения исследуемых факторов.

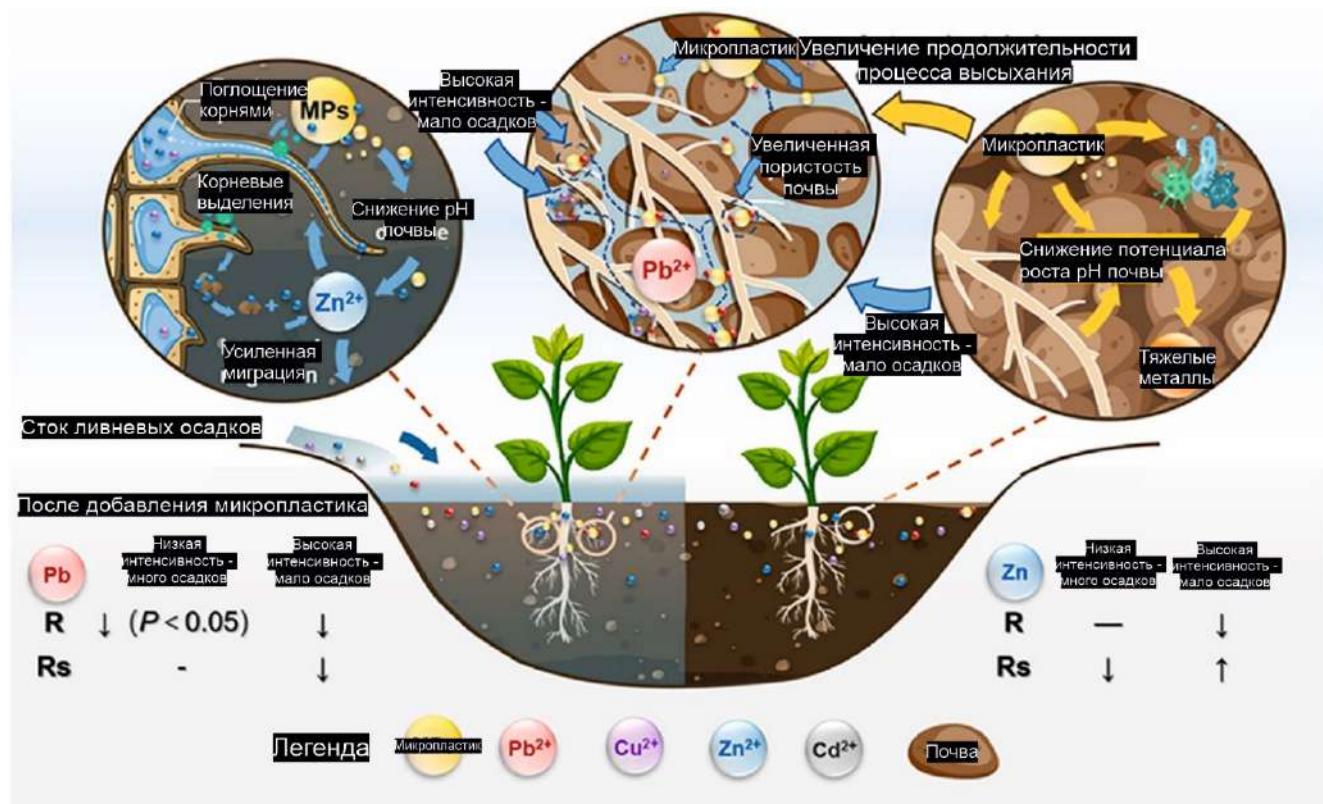


Рисунок 2. Схематическое изображение особенностей функционирования системы «грунт-растение» при загрязнении тяжелыми металлами [150]

Исходя из вышесказанного, для изучения взаимодействия компонентов системы «загрязненный песчаный грунт – растение» наиболее целесообразно применять метод экспериментального моделирования, при котором возможен контроль ограничивающих абиотических факторов (концентрации загрязнителей), а также изменение свойств песчаного грунта и учет биологической реакции растений на токсическое воздействие поллютантов². Применение данного подхода находит свое отражение в работах многих отечественных и зарубежных исследователей, так в работах В.А. Тереховой [84, 85] при исследовании реакции высших растений на засоление почв, был выполнен модельный эксперимент, при котором на основе теоретических представлений был выбран диапазон концентраций основных форм солей и произведена оценка биологической реакции растений с применением метода фитотестирования. Также в исследованиях F. Meng [132], L. Cherniak [114], S.Z. Abbas [104], при изучении загрязненных грунтов и влиянии токсикантов на растения применялся метод экспериментального моделирования для получения закономерностей взаимодействия компонентов исследуемых систем.

² Под «поллютантом» понимается любое вещество, попадающее в систему извне и оказывающее некоторое воздействие на ее компоненты, которое, в отличие от «токсиканта», не всегда является токсичным, то есть губительным для компонентов системы [149]

Таким образом, при исследовании системы «загрязненный песчаный грунт – растение» необходимо применять системный подход, заключающийся в ее покомпонентном описании, исследовании взаимодействия компонентов, изменения потоков веществ и функционирования живых организмов. С учетом динамики рассматриваемой структуры наиболее целесообразно применять метод экспериментального моделирования для регулирования интенсивности воздействия абиотических ограничивающих факторов, возможности установления временных и пространственных границ, а также для выявления конкретных закономерностей взаимодействия компонентов.

1.2. Компоненты системы «загрязненный песчаный грунт – растение»

При рассмотрении системы «загрязненный песчаный грунт – растение» с позиций экосистемного подхода можно выделить абиотическую и биотическую компоненты. В условиях лабораторного моделирования исследуемой песчаной грунтовой системы, в качестве абиотических компонент будут выступать твердая компонента грунта, грунтовая влага и газовая компонента [94]. Биота в данном случае может рассматриваться в качестве естественных сообществ микроорганизмов, которые связаны с песчанным грунтом и искусственным сообществом растений. Данная совокупность компонентов рассматривается как единый функционирующий комплекс, причем его структура и динамика взаимодействия будут определяться свойствами каждого отдельного элемента [91, 101].

Песчаный грунт, рассматриваемый в качестве абиотической компоненты, обладает специфическими физическими и физико-химическими свойствами, которые не присущи другим разновидностям дисперсных грунтов. Так, ввиду относительно невысокой сорбционной способности и емкости катионного обмена [152] увеличивается биодоступность потенциально токсичных химических веществ и соединений. Данный факт подтверждают исследования A. Kabata-Pendias [130], по которым подвижность основных катионов тяжелых металлов (Cd , Pb , As) в песчаных грунтах на 30 – 50 % выше, чем в суглинках. Также, песчаные грунты отличаются низкими значениями площади удельной поверхности, что снижает потенциал развития процессов физической адсорбции загрязнителей на поверхности частиц. Так, в работе H.S. Bingari с соавторами [109] рассматривается интенсивность процессов адсорбции компонентов углеводородного загрязнения в песчаных и суглинистых грунтах, по результатам исследования отмечается, что интенсивность сорбции липофильных соединений (бенз(а)пирен, толуол) на 60 % ниже в песках, что может приводить к накоплению потенциально токсичных веществ в поровом пространстве (рисунок 3).

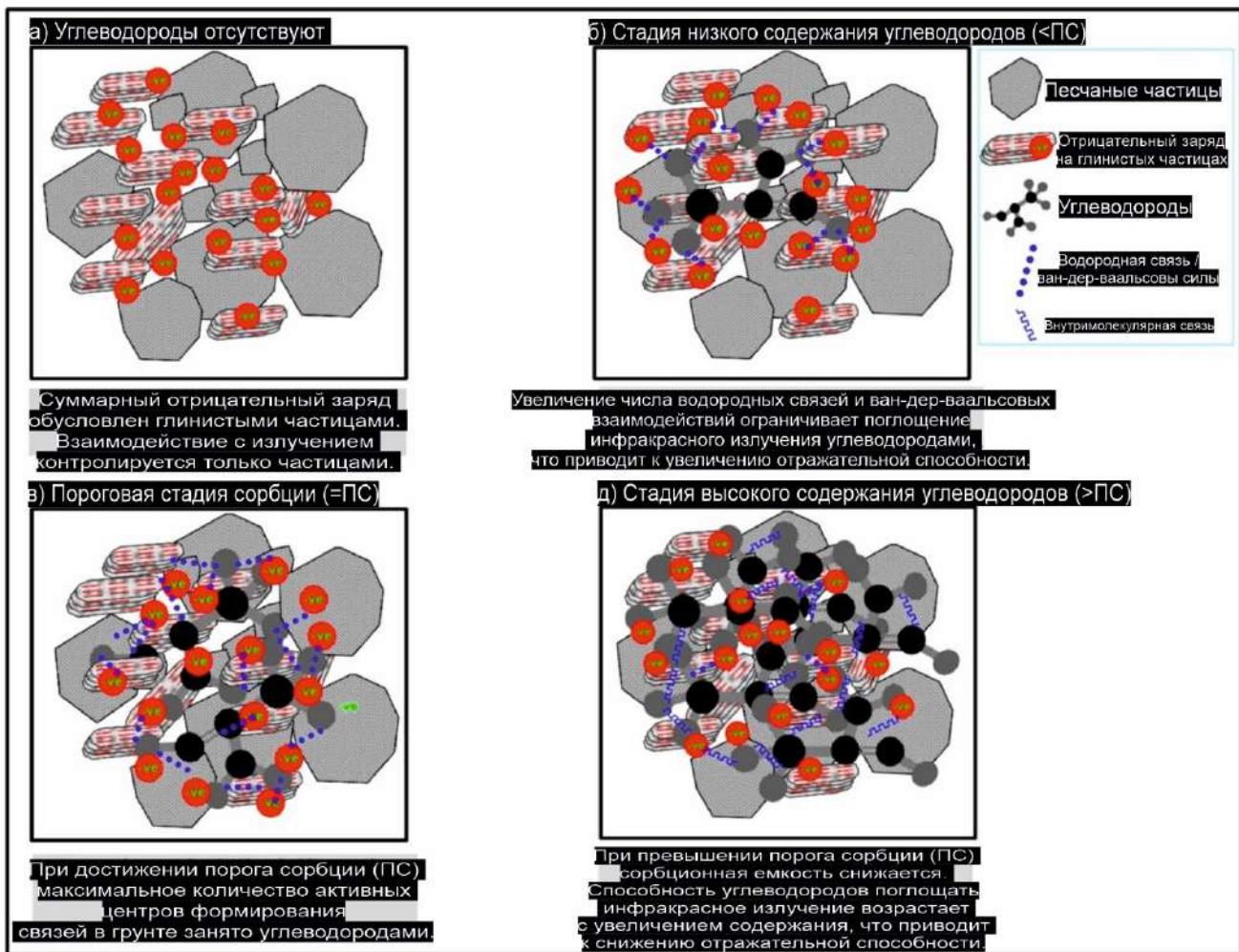


Рисунок 3. Зависимость интенсивности сорбции компонентов углеводородного загрязнения в песчаной грунтовой системе [109]

Песчаные грунтовые системы также характеризуются особыми биотическими свойствами: для песчаных грунтов не характерно высокое содержание органического вещества; низкая сорбционная емкость не способствует присутствию в грунтовой системе достаточного количества биофильных химических элементов; высокая проницаемость и особенности структуры порового пространства определяют особые водно-физические свойства песчаной грунтовой системы для жизнедеятельности организмов и растений в первую очередь [110]. В то же время, наличие в песчаном грунте, который теоретически не обладает свойствами благоприятными для обеспечения жизнедеятельности микроорганизмов, различных биологических сообществ подтверждается исследованиями Н.А. Манучаровой, А.Н. Власенко и Е.В. Менько [74]. В работе авторов отмечается, что общая численность микроорганизмов в песках пустынь в приповерхностном слое составляет $6 \cdot 10^8$ кл/г грунта. Данный факт также подтверждается исследованиями зарубежных авторов [110, 125, 131, 136] в чьих работах показано, что в песчаных грунтах различного генезиса содержится значительное количество

бактерий, причем метаболическая активность сообществ микроорганизмов увеличивается вверх по профилю.

Степень влияния активности микробиологических сообществ в системе «почва-вода-растения-микроорганизмы» также рассмотрены в работе И.И. Судницына и соавторов [79]. Авторы отмечают вклад продуктов жизнедеятельности микроорганизмов в формирование благоприятных условий для развития и роста высших растений. Особое внимание уделяется образованию почвенных газов, которые в силу своего химического состава способствуют развитию растения на самых ранних стадиях. При условии моделирования загрязненного песчаного грунта, так или иначе, имеет место наличие различных сообществ микроорганизмов, которые в процессе жизнедеятельности формируют определенные абиотические свойства исследуемого грунта [35].

Влияние различных абиотических компонент на рост и развитие растений рассматривалось в работе Е.А. Костенко [39]. По итогам исследований было определено, что характер роста и развития высших растений на песчаном грунте определяется микробиологической активностью имеющихся микробиоценозов, а также компонентным составом газовой составляющей и влажностными характеристиками.

Процессы жизнедеятельности биоты, находящейся в песчаной грунтовой системе, будут определять ее биокаталитические свойства, реализуемые посредством присутствия ферментов, которые заключаются в способности этих систем ускорять процессы превращения более сложных веществ (в том числе поллютантов) в более простые. Накопление ферментов в верхних горизонтах литосферы обуславливает возникновение особых биотических свойств грунта, инструментальная оценка которых возможна через показатели ферментативной активности. От присутствия ферментов будут зависеть все биохимические преобразования, происходящие в динамичной многокомпонентной грунтовой системе [18].

В грунт ферменты поступают с прижизненными выделениями растений и животных, а также после их отмирания. Они представляют собой совокупность различных внутриклеточных и внеклеточных ферментативных компонентов, вырабатываемых микробными организмами (бактериями, грибами) или получаемых из животных и растительных источников (корней растений, лизированных растительных остатков, пищеварительных трактов мелких животных и т.д.). Так, например, как показано на рисунке 4, в почвенных системах принято выделять три основные категории ферментов: внутриклеточные, внеклеточные и ферменты, иммобилизованные (сорбированные) на поверхности почвенных частиц [18].

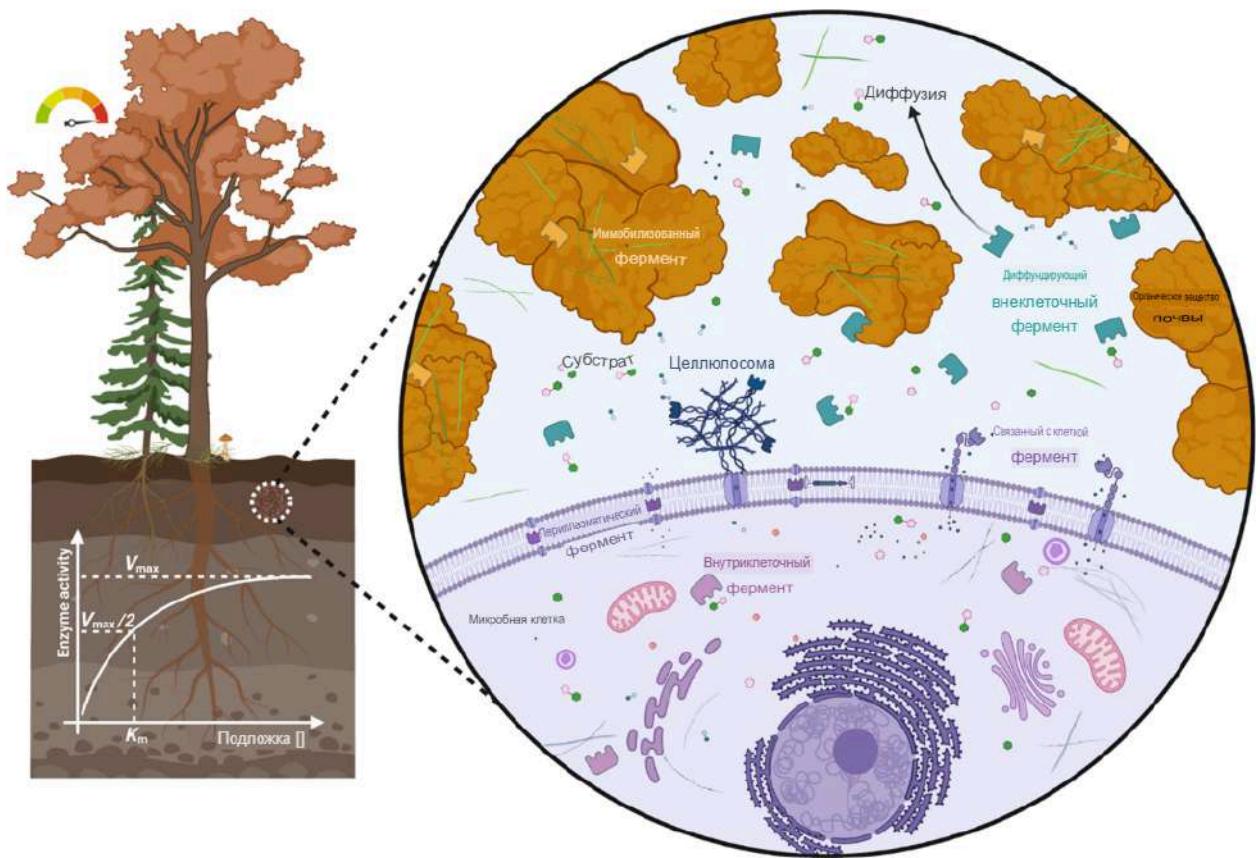


Рисунок 4. Формы нахождения ферментов в грунтовых системах [119]

Деятельность ферментов, находящихся в грунтовой системе, играет основополагающую роль в проявлении химических и ряда физико-химических свойств. Именно ферменты опосредуют многочисленные химические реакции, происходящие между компонентами грунта, в том числе обеспечивают круговорот химических элементов, трансформацию и минерализацию органических веществ, разложение и деградацию потенциально опасных загрязняющих веществ, тем самым способствуя восстановлению и рекультивации нарушенных территорий [18].

Особенности физических характеристик песчаных грунтовых систем формируют их специфические водно-физические свойства, которые, в свою очередь, будут определять количество и доступность грунтовой влаги необходимой для обеспечения жизнедеятельности живых организмов. Исходя из этого, условия роста, развития и жизнедеятельности растений на песчаных грунтах будут формироваться в связи с наличием достаточного уровня влаги, который определяется показателем максимальной молекулярной влагоемкости (W_{mmc}) [31]. Физиологические особенности роста и развития растений на субстрате с различными влажностными характеристиками также тщательно исследовались в работах И.И. Судницына [23, 78], автор указывает на прямую зависимость концентрации корней высших растений в зависимости от влажности песчаной почвы. Критическому значению влажности соответствует влажность максимальной молекулярной влагоемкости, причем снижение данного показателя на

10 %, снижает концентрацию корней растений практически вдвое. Также в исследованиях Н.А. Качинского [28], посвященных особенностям водно-физических свойств почв, отмечается, что для песчаных разновидностей ключевой влажностной характеристикой будет являться влажность максимальной молекулярной влагоемкости. На основе анализа многочисленных результатов экспериментальных исследований Н.А. Качинский делает вывод о том, что при снижении содержания влаги в песчаной грунтовой системе на 4 – 6 % ниже показателя W_{mmc} , вода переходит в прочносвязанное состояние. При этом корневая система растений оказывается не способна преодолеть адсорбционные силы, удерживающие воду на поверхности песчаных частиц, что может приводить к угнетению роста и развития.

Таким образом, в исследуемой системе «загрязненный песчаный грунт – растение» можно выделить абиотическую и биотическую подсистемы. Физические, химические и физико-химические особенности песчаной грунтовой системы будут определять степень биодоступности токсичных компонентов загрязнителей. Несмотря на особенности биотических свойств песчаных грунтов, наличие в них микробных сообществ способно оказывать значимое влияние на ее функционирование и поток веществ. Биокаталитические свойства грунтовой системы, процессы превращения сложных соединений в простые, а также интенсивность биохимических преобразований веществ определяется присутствием ферментов в различных формах, оценка интенсивности проявления их свойств определяется показателями ферментативной активности. Интенсивность роста и развития растений на песчаных грунтах будет связана с особыми физическими и физико-химическими свойствами субстрата, определяющим в данном случае будет наличие достаточного уровня грунтовой влаги, соответствующего влажности максимальной молекулярной влагоемкости.

1.3. Обоснование возможных взаимодействий и процессов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение»

Взаимодействие компонентов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение» будет определяться комплексом физических, химических, физико-химических и биологических процессов, интенсивность протекания и специфика которых обусловлена особенностями песчаной грунтовой системы и биологическими адаптивными механизмами растений.

В условиях взаимодействия загрязненной песчаной грунтовой системы с высшими растениями возможно проявление различного рода токсических эффектов, снижающих биологические показатели культур. Растения подвергаются абиотическим стрессам, что, в первую очередь, сказывается на их росте, развитии и продуктивности. Наиболее универсальным уровнем для рассмотрения реакции высших растений на экзогенное токсическое воздействие является клетка – как условная элементарная единица растительного организма и основа его

жизнедеятельности. При минимальном количестве связей и отклонений на клеточном уровне проявляется все разнообразие функций, присущих биосистемам любой сложности [86].

Из всех возможных, одним из наиболее значимых абиотических факторов, отрицательно сказывающихся на росте и развитии растений, является засоление грунтовой системы. Наличие в грунте даже незначительной концентрации солей способствует повышению осмотического потенциала водного раствора в поровом пространстве, что является одним из наиболее распространенных лимитирующих факторов для высших растений [30]. Помимо увеличения осмотического давления, затрудняющего доступ воды к клеткам растений, соли могут действовать как специфические яды.

По данным Л.А. Чудиновой и Н.В. Орловой [98], наибольший токсический эффект оказывают ионы Na^+ и Cl^- , под действием хлоридно-натриевого загрязнения происходят нарушения ультраструктуры клеток, выражющиеся в повреждении мембранных структур, в частности плазмалеммы, увеличении проницаемости и потери способности к избирательному накоплению веществ. Концентрация иона натрия препятствует накоплению других катионов необходимых для роста и развития растений, таких как кальций и калий. Также отмечается, что негативное воздействие хлористых солей, в первую очередь, начинается с их проникновения в набухающие семена. Как указывает в своих работах Г.В. Удовенко [95] количество поступающего хлора в семена, в условиях хлоридного загрязнения, незначительно и не превышает значение, возникающее за счет пассивной диффузии. Однако, в процессе развития семени и увеличения интенсивности обмена веществ, особенно с появлением проростка, скорость поступления хлора резко увеличивается, значительно снижая способность семян к всходу [25].

Также не менее значимым с точки зрения токсического воздействия по отношению к высшим растениям является углеводородное загрязнение грунтовых систем. Чаще всего компонентами данного типа загрязнения являются различные нефтепродукты, содержащие полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), которые оказывают наиболее биологически значимый эффект на рост и развитие культур [76]. Особенности взаимодействия углеводородного загрязнения с песчаной грунтовой системой предполагают, помимо прямого токсического воздействия, опосредованное за счет изменения физических свойств песков.

В обзоре, проведенном коллективом авторов [124], были рассмотрены основные аспекты воздействия углеводородного загрязнения на биологические показатели высших растений. Было отмечено, что тяжелые фракции углеводородов (асфальтены, смолы) формируют многослойные гидрофобные пленки на поверхности грунтовых частиц, что приводит к снижению проницаемости порового пространства и формированию анаэробных условий, в которых повышается активность развития анаэробных микробных сообществ, продукты

жизнедеятельности которых способны оказывать токсический эффект на прорастающие семена высших растений. Аналогичные выводы о влиянии углеводородного загрязнения грунтовых систем на их физические и физико-химические свойства, а также условия функционирования живых организмов были сделаны в работах В.А. Королева [36, 37].

Примером прямого токсического воздействия нефтяного загрязнения грунтовых систем на высшие растения являются исследования, проведенные коллективом зарубежных авторов [106], по результатам которых было выявлено, что липофильные компоненты углеводородов нефти способны растворяться в липидных мембранах клеток растений, вызывая повышение их проницаемости («утечка» электролитов K^+ , Ca^{2+}) и ингибирование активности фермента аденоциантифосфатазы, которое приводит к нарушение ионного гомеостаза.

Восприимчивость растений к экзогенному токсическому воздействию изменяется на протяжении их развития. Особо уязвимой является стадия прорастания семян, ювенильная стадия развития, на которой не успевают сформироваться адаптационные механизмы.

Таким образом, при рассмотрении взаимодействий в системе «загрязненный песчаный грунт – растение» необходимо, в первую очередь, учитывать биологическую реакцию высшего растения. Механизм токсического влияния компонентов веществ-загрязнителей будет зависеть от их химического состава и физических свойств, а также стадии развития высшего растения.

Выводы к главе 1

1. При исследовании системы «загрязненный песчаный грунт – растение» необходимо применять комплексный подход, заключающийся в ее покомпонентной характеристике, исследовании взаимодействия компонентов, анализе изменения потоков веществ и особенностей функционирования живых организмов. С учетом динамики рассматриваемой системы наиболее целесообразно применять метод экспериментального моделирования для оценки интенсивности воздействия абиотических лимитирующих (ограничивающих жизнедеятельность живых организмов) факторов, возможности установления временных и пороговых границ воздействия, а также для выявления конкретных закономерностей взаимодействия компонентов в рассматриваемой системе.

2. В исследуемой системе «загрязненный песчаный грунт – растение» можно выделить абиотическую и биотическую подсистемы. Физические и физико-химические особенности песчаного грунта определяют степень биодоступности токсичных компонентов загрязнителей для высших растений. Несмотря на особенности биотических свойств песчаных грунтов, наличие в грунтовой системе микробных сообществ способно оказывать значимое влияние на ее

функционирование и поток веществ. Биокаталитические свойства грунтовой системы, процессы превращения сложных соединений в простые, а также интенсивность биохимических преобразований вещества определяется присутствием ферментов в различных формах, оценка интенсивности проявления их свойств определяется показателями ферментативной активности. Интенсивность роста и развития растений на песчаных грунтах связана с особыми физическими, химическими и физико-химическими свойствами субстрата, определяющим в данном случае будет наличие достаточного уровня грунтовой влаги.

3. При рассмотрении взаимодействий в системе «загрязненный песчаный грунт – растение» необходимо, в первую очередь, учитывать биологическую реакцию высшего растения. Механизм токсического влияния компонентов веществ-загрязнителей зависит от их химического состава и физических свойств, а также стадии развития высшего растения.

Глава 2. Распространение и характер загрязнения песчаных грунтов в пределах районов нефтедобычи³

При современном уровне техногенного воздействия на все компоненты природной среды исследователям различных областей знаний, в том числе наук о Земле, все чаще приходится сталкиваться с так называемыми загрязненными средами. Следует иметь в виду, что в общем виде загрязнение – это поступление в окружающую природную среду любых твердых, жидких и газообразных веществ, микроорганизмов или энергий в количествах, вредных для здоровья человека, животных, состояния растений и экосистем [19].

Одним из наиболее сложных с позиций познания природы происходящих взаимодействий является углеводородное загрязнение. Это связано как с разнообразием, непостоянством его состава, так и с наличием сопутствующих загрязняющих веществ. Так, по данным многочисленных исследований [65, 73], на территории нефтепромыслов углеводородному загрязнению будет предшествовать солевое.

В большей степени углеводородному загрязнению, в силу своих свойств и широте распространения, подвергаются именно песчаные грунты. Это связано, в первую очередь, с широким их распространением на территории нефтепромыслов и активным использованием при технологическом обустройстве кустовых площадок, нефтедобывающих скважин [5, 27, 53]. Кроме того, большинство нефтешламов представлено, как правило, песчаными грунтами. Несмотря на острую актуальность проблемы, ввиду исключительной ее многоаспектности, многие вопросы, связанные с оценкой опасности загрязнения песчаных грунтов, до сих пор остаются слабоизученными.

2.1. Распространение и использование песчаных грунтов в пределах нефтедобывающих районов

Широко известен тот факт, что самыми распространенными по происхождению горными породами на Земле являются осадочные. В соответствии с этим наиболее широко распространенным типом осадочных горных пород являются пески, основным компонентом состава которых, выступает кремнезем – самое распространенное вещество на планете. По средним оценкам около 58,3 % вещества литосферы – это SiO_2 , при этом около 12 % находятся в

³ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные в соавторстве, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

1. Григорьева, И. Ю. Физико-химические процессы, происходящие на поверхности кварцевого песка при внесении загрязнения, и их влияние на Результаты фитотестирования / И. Ю. Григорьева, А. В. Морозов, М. А. Гладченко // Грунтоведение. – 2022. – № 2(19). – С. 27-39.

2. Морозов, А. В. Особенности реакции высших растений на углеводородное загрязнение песчаного грунта при фитотестировании / А. В. Морозов, И. Ю. Григорьева, М. А. Гладченко // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2025. – № 3. – С. 38-47.

виде самостоятельных горных пород [1]. Именно широкое распространение песков определяет проявляемый к ним большой практический и научный интерес [20, 34].

Песчаные грунты в структуре общей классификации обособляются на уровне вида в классе дисперсных несвязных грунтов. В целом под «песчаным грунтом» понимают – «дисперсное несвязанное (несцементированное) сыпучее в сухом состоянии природное или антропогенное образование, содержащее более 50% (до 90-95%) по массе минеральных собственно песчаных частиц и агрегатов размером 2,00-0,05 мм, глинистых частиц (<0,002 мм) менее 3%...» [63, с. 26]. В зависимости от целей исследования данного типа грунта, возможно внесение дополнительных специфических физических и физико-механических характеристик в данное определение.

На территории РФ встречаются практически все генетические типы четвертичных и дочетвертичных песков. Условия и факторы формирования данного типа осадочных горных пород будут в значительной степени определять их гранулометрический, минеральный составы, показатели их физических, физико-механических и физико-химических свойств. Основными регионами распространения песчаных грунтов являются: платформы Европейской части России (Восточно-Европейская, Тимано-Печорская, Скифская) и Западно-Сибирская плита. В границах Восточно-Европейской платформы основными типами отложений, в которых встречаются пески, будут ледниковые, флювиогляциальные и лимногляциальные, причем полные разрезы, включающие осадки всех оледенений практически не встречаются. В южных и восточных районах Европейской части России в основном распространены пески эолового, морского и озерно-аллювиального генезиса. Крупные ареалы распространения эловых отложений приурочены к террасам крупных рек, встречаются в Прикаспии, где наряду с ними широко развиты пески морского генезиса. Также стоит отметить, что морские геолого-генетические комплексы, содержащие песчаные грунты, развиты на побережьях северных морей, однако, площади их распространения там существенно меньше [64].

Крупным регионом, где широко представлены песчаные отложения четвертичного и дочетвертичного возраста, является Западная Сибирь [90]. В северной части плиты развиты преимущественно пески морского генезиса, слагающие морские террасы и входящие в состав верхнеплейстоценовых комплексов. Южнее обнаруживаются песчаные грунты водно-ледниковых, озерно-ледниковых и озерно-аллювиальных отложений. В речных террасах развиты аллювиальные пески, причем на крупных реках (Обь, Иртыш) возможно замещение аллювия надпойменных террас озерно-аллювиальным комплексом с преимущественно глинистым составом. В южной части Западно-Сибирской плиты на террасах р. Обь развиты обширные песчаные массивы эолового происхождения. Особенности геологического развития данного региона в мезозое и раннем кайнозое способствовали формированию масштабной

синеклизы, в верхней части толщи которой, залегают мел-палеогеновые слабо литифицированные отложения, преимущественно представленные песчаными грунтами [63].

С точки зрения развития нефтегазоносных толщ, песчаные грунты являются главными природными резервуарами, в которых происходит накопление горючих полезных ископаемых. Особенности коллекторских свойств данного типа горных пород определяются их высокой пористостью и значительной проницаемостью, что обеспечивает эффективное накопление и миграцию флюидов из материнских толщ [12]. На территории РФ крупнейшие нефтегазоносные бассейны (Западно-Сибирский, Волго-Уральский, Тимано-Печорский) характеризуются преобладанием песчаных отложений в разрезе осадочного чехла. Так, формирование одного из крупнейших регионов добычи горючих полезных ископаемых – Западно-Сибирского нефтегазоносного мегабассейна связано с наличием толщи осадочных пород мощностью до 8 – 12 км с преобладанием песчано-алевритовых отложений юрского и мелового возраста [32]. Стоит отметить, что до 98,5 % химического состава данных грунтов приходится на кремнезем (SiO_2), а в минеральном составе до 97 % составляет кварц, в незначительных количествах присутствуют: слюда и темноцветные минералы [92, 93].

Разработка месторождений и добыча полезных ископаемых в пределах данного региона осложняется широким распространением верховых, низинных и переходных болот, которые занимают около 60 % территории. Преимущественно покровные отложения представлены торфами, которые обладают чрезвычайно низкой несущей способностью. В ходе разведки и эксплуатации крупных месторождений на территории Западно-Сибирской плиты (Самотлорское, Приобское, Салымское) для обеспечения устойчивости площадных и линейных объектов инфраструктуры применяют метод отсыпки основания с использованием преимущественно привозного песчаного грунта. В рамках данных мероприятий используются огромные объемы песчаного материала, так, на Приобском месторождении для установки буровых модулей была сооружена песчаная «подушка» мощностью 3,5 м [75]. Вследствие осуществления данных мероприятий по улучшению инженерно-геологических свойств площадок размещения сооружений, на территории месторождений формируются масштабные искусственно созданные толщи песчаных грунтов.

Таким образом, пески как основной тип осадочных горных пород широко распространены на территории России, в целом, и в районах нефтедобычи, в частности. Ввиду физических и физико-химических особенностей, формирующими коллекторские свойства, полезные толщи главных месторождений по добывче углеводородов сложены песчаными грунтами. Особенности инженерно-геологических условий территорий месторождений Западной Сибири предполагают применение метода отсыпки оснований сооружений с использованием привозных песков, которые формируют масштабные искусственно созданные толщи.

2.2. Особенности веществ-загрязнителей песчаных грунтов на территориях нефтедобычи

Как было показано ранее, песчаные грунты широко распространены на территории нашей страны. Особое внимание с точки зрения оценки возможного уровня и значимости загрязнения вызывают территории нефтяных и нефтегазовых месторождений Западной Сибири, располагающихся в пределах пойменных участков [90]. В условиях процесса добычи полезных ископаемых, определенно будет присутствовать угроза загрязнения песчаных грунтов как углеводородами, так и различными химическими соединениями, входящими в состав технических жидкостей.

Одним из основных загрязнителей на территории нефтедобывающих предприятий будут являться различные нефтепродукты, попадающие в песчаные грунтовые системы в ходе осуществления процессов добычи и транспортировки углеводородного сырья, а также в результате аварийных ситуаций. В зависимости от вида загрязнителя меняется характер его распространения и локализации в песчаном грунте. Так, легкие фракции углеводородов (бензол, толуол, ксиолы) способны мигрировать вглубь профиля засчет высокой растворимости и особенностей структуры порового пространства песков. В то же время тяжелые фракции (асфальтены, смолы, ПАУ) способны формировать устойчивые гидрофобные линзы вблизи поверхности. Невысокая сорбционная емкость и значительная проницаемость песчаных грунтов могут способствовать распространению и миграции загрязняющих веществ [40]. Специфические физические и физико-химические свойства песков, а также незначительное исходное содержание органического вещества могут ограничивать интенсивность процессов окисления наиболее токсичных компонентов углеводородного загрязнения [128, 149].

Другим фактором загрязнения песчаных грунтов в районах нефтедобычи является использование буровых растворов и сопутствующих технических жидкостей, в составе которых присутствуют высокотоксичные тяжелые металлы и их соединения. Так, по данным исследования, проведенного Б.А. Бачуриным и А.А. Борисовым [6], концентрация тяжелых металлов в загрязненных песчаных грунтах на одном из месторождений, расположенных в Западной Сибири, превышает фоновые значения в 3 – 6 раз (концентрация ванадия (V) составила 120 – 150 мг/кг, фоновое значение 20 – 40 мг/кг). Стоит отметить, что особенности ландшафтов Западно-Сибирского региона способствуют миграции и ассимиляции загрязнителей.

Помимо территорий непосредственной добычи углеводородного сырья, загрязнение нефтепродуктами широко распространено на всей площади РФ. Интенсивное развитие промышленности в последнее время предполагает использование различных нефтепродуктов практически на каждом производстве. В повседневной жизни большинство материалов изготовлены с использованием нефти. В работах зарубежных авторов отмечается возрастающая

значимость углеводородного загрязнения грунтов [105, 112, 118, 129]. Основным нефтепродуктом, производимым на территории Российской Федерации, является – дизельное топливо (рисунок 5). Дизельное топливо широко используется во многих отраслях промышленности, в основном для обеспечения энергией предприятия или транспорта. По мнению Е.Л. Воробейчик [10] основное загрязнение верхней части литосферы представлено именно углеводородными соединениями. В связи с тем, что дизельное топливо широко распространено, оно будет являться одним из основных компонентов углеводородного загрязнения грунтов.

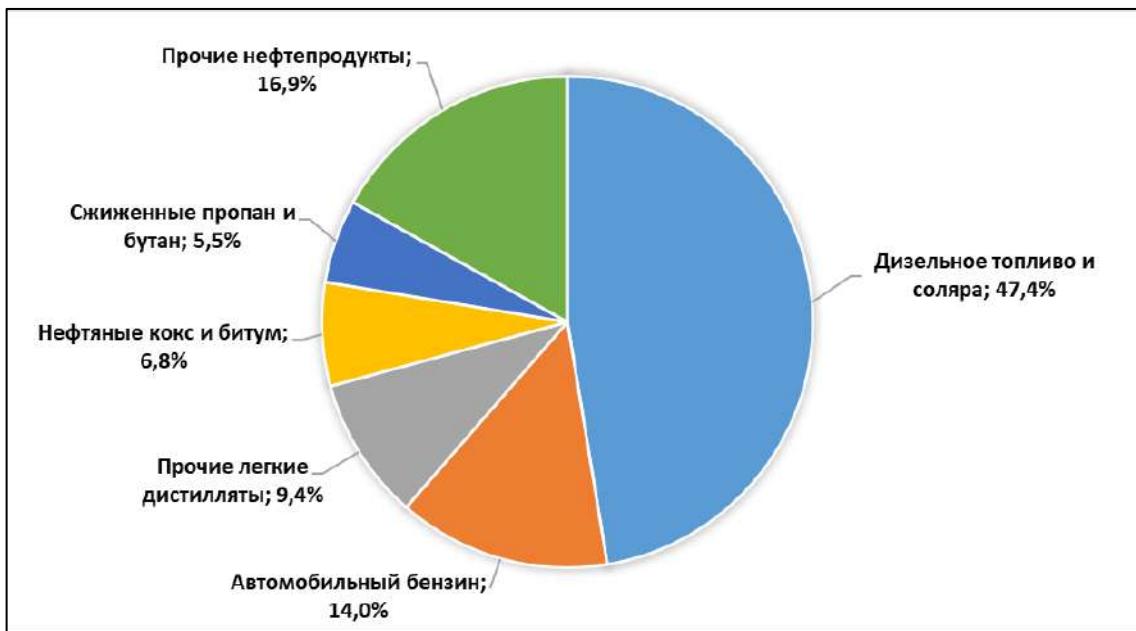


Рисунок 5. Структура использования и производства нефтепродуктов в Российской Федерации в 2023 году [16]

В соответствии с представлениями Н.П. Солнцевой [73], на нефтезагрязненных территориях практически всегда идет опережающее засоление грунтов – это так называемый «техногенный галогенез». На месторождениях нефти и нефтегазоконденсата техногенный галогенез является одним из наиболее характерных геохимических процессов, в ходе которого происходит засоление почв, горных пород, поверхностных и подземных вод. Источником возникновения засоления являются высокоминерализованные техногенные потоки, в составе которых значительную роль играют водорастворимые хлориды. Источником солей являются: сырая нефть (пластовые жидкости), сточные промысловые воды, содержимое хранилищ, промывочные жидкости и другие геохимически активные вещества, применяемые для извлечения и обессоливания нефти. Стоит отметить, что физические свойства добываемой нефти на территории группы месторождений Западной Сибири, предполагают использование специальных технических растворов для повышения коэффициента нефтеотдачи [57]. Данная

проблема в основном приурочена к гумидным территориям, в то же время крупные месторождения нефти в России расположены в таких районах (в том числе месторождения Западной Сибири), поэтому проблема техногенного галогенеза достаточно остра для всей территории страны [73].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что песчаные грунтовые системы в районах нефтедобычи подвержены загрязнению не только нефтепродуктами, но и солями, входящими в состав технических жидкостей и буровых растворов. Следовательно, углеводородное и солевое загрязнения присутствуют в грунтовых системах практически неотъемлемо друг от друга. Поэтому создание моделей загрязненного грунта с максимальным приближением к природным условиям составом должно подразумевать образцы не только с одиночным загрязнением, но и с комплексным, включая как углеводороды нефти, так и легкорастворимые соли.

Выводы к главе 2

1. Пески как основной тип осадочных горных пород широко распространены на территории России в целом и в районах нефтедобычи в частности. Ввиду физических и физико-химических особенностей, формирующих коллекторские свойства, полезные толщи главных месторождений по добыче углеводородов сложены песчаными грунтами. Особенности инженерно-геологических условий территорий месторождений Западной Сибири предполагают применение метода отсыпки оснований сооружений с использованием привозных песков, которые формируют масштабные искусственно созданные толщи.

2. Песчаные грунтовые системы в районах нефтедобычи подвержены загрязнению не только нефтепродуктами, но и солями, входящими в состав технических жидкостей и буровых растворов. Следовательно, углеводородное и солевое загрязнения присутствуют в грунтовых системах практически неотъемлемо друг от друга. Поэтому создание моделей загрязненного грунта с максимальным приближением к природным условиям должно подразумевать образцы не только с одиночным загрязнением, но и с комплексным, включая как углеводороды нефти, так и легкорастворимые соли.

Глава 3. Фитотестирование и его применение в экологической геологии⁴

Стремительное увеличение количества загрязняющих веществ, усложнение состава поступающих в природные среды соединений явилось причиной того, что существующий и наиболее распространенный в практике научных исследований и инженерных изысканий санитарно-гигиенический подход, основанный на системе предельно допустимых концентраций (ПДК), не отвечает современным принципам экологической безопасности. Осознание подобного обстоятельства большинством исследователей, работающих в разных научных направлениях, привело к тому, что в последнее десятилетие контроль качества окружающей среды с использованием различных биологических объектов (биодиагностика) оформился как актуальное научно-прикладное направление [17]. Также необходимо учитывать, что в реальных условиях могут реализовываться различные сценарии взаимодействия токсикантов, в связи с этим можно утверждать, что изолированное негативное воздействие веществ отсутствует, вместо этого стоит рассматривать процессы взаимодействия различных потенциально токсичных веществ и факторов [87, 99]. Стоит отметить, что в практической деятельности невозможно учесть синергетический и антагонистический эффекты взаимодействия различных загрязняющих веществ. Равно как и невозможно получить информацию о вторичных эффектах воздействия веществ, вызванных их накоплением и трансформацией в различных звеньях экосистем [17].

Анализ литературных данных [45, 138, 139] и собственные экспериментальные исследования [15, 17] позволяют сделать вывод о том, что биотестирование необходимо проводить с учетом условий миграции возможных загрязняющих веществ (поллютантов) как в водных вытяжках, так и непосредственно в самих грунтах, используя грунтовые пасты в качестве тестируемого субстрата. На рисунке 6 приведена обобщенная схема, дающая представление о путях попадания в организм человека поллютантов из верхних горизонтов литосфера, представленных массивами дисперсных грунтов. Прямой путь реализуется в случаях: вдыхания пыли (рисунок 6, а); при непосредственном контакте с загрязненным грунтом, при случайном или целенаправленном попадании в желудочно-кишечный тракт, а также при адсорбции на поверхности кожи (рисунок 6, б); при употреблении для питья подземных вод из горизонтов, приуроченных к загрязненным грунтам (рисунок 6, в). Вторичный или косвенный путь заключается в употреблении человеком в пищу растений, мяса животных и рыб (рисунок 6, г, д, е), которые контактировали с загрязняющими веществами в среде своего

⁴ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные в соавторстве, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Григорьева, И. Ю. Дисперсные грунты как объекты биодиагностики / И. Ю. Григорьева, А. В. Морозов, С. С. Садов // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2024. – № 5. – С. 43-57.

обитания. Наличие в области проникновения загрязнения в грунтовую толщу водоносного горизонта, разгружающегося в открытый водоем, также приводит к реализации вторичного пути при контакте кожи человека с загрязненными поверхностными водами (рисунок 6, ж). Третий сценарий попадания загрязняющих веществ в организм человека заключается во включении токсичных соединений в круговорот воды и их перенос на ранее незагрязненные участки (рисунок 6, з), а также попадании паров, содержащих летучие контаминаанты, в жилые здания и постройки (рисунок 6, и).

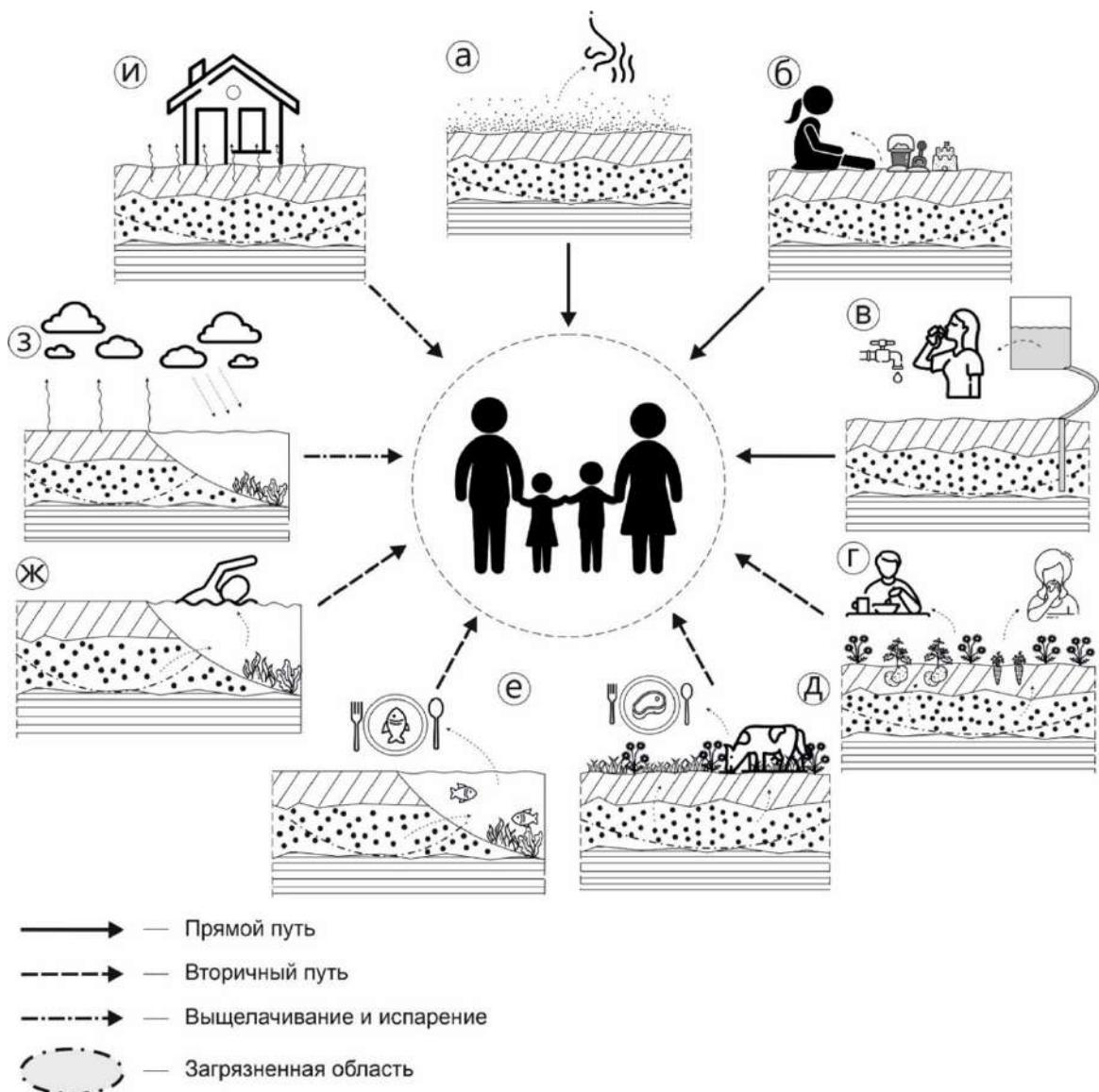


Рисунок 6. Пути возможного попадания химических соединений из верхних горизонтов земной коры в организм человека (пояснения см. в тексте)

Исходя из этого, можно утверждать, что экотоксикологические исследования грунтов, при оценке уровня и характера загрязнения, должны производиться, как с применением химико-аналитических методов и сравнении результатов с нормативами (ПДК, ПДУ), так и с

учетом биологической значимости загрязнителей, используя биотестирование в целом, и фитотестирование в частности.

3.1. История развития и перспективы применения фитотестирования как метода экотоксикологической оценки уровня загрязнения грунтовых систем

В настоящее время различные методы биотестирования становятся все более распространенными в сфере определения уровня экологической опасности различных сред. Данная методика стала столь востребована среди специалистов только в последнее время, однако история использования биологических видов для оценки экологической опасности и токсичности сред берет свое начало еще в средние века, когда шахтеры использовали канареек для индикации появления токсичного газа в горных выработках [88].

Позднее биотестирование стало применяться как способ оценки качества воды. В начале XX в. для токсикологической характеристики использовали «рыбную пробу». Именно с оценки экотоксикологических характеристик водной среды начало развиваться биотестирование. Первые биотесты на дафниях были произведены в 1918 году, но уже в 1930 году в качестве тест-объектов стали использовать различных гидробионтов разного систематического уровня и различного положения в трофической цепи. В 1940 году в систему испытаний водных сред включили простейших ракообразных и червей. В то же время были установлены первые конкретные, так называемые, тест-параметры, которые характеризуют воздействие загрязнителей на конкретный биологический вид [33]. Для оценки качества водных сред были выбраны такие показатели как: выживаемость, репродуктивность, выживаемость нарождающейся молоди, дыхательные и сердечные ритмы, потребление кислорода, выделение углекислого газа и аммиака как конечных продуктов метаболизма, дыхательный коэффициент, темпы роста и питания, кормовой коэффициент, увеличение биомассы и другие [21, 38, 39, 88, 96].

К концу XX в. началось бурное развитие методик биотестирования, а также внедрение данных методов в качестве показателя оперативной интегральной диагностики качества воды. После апробирования их рекомендовали для определения качества и экотоксичности природных и сточных вод. Уже в 1990 году Госкомитетом СССР по охране природы было подготовлено и утверждено первое «Методическое руководство по биотестированию вод (РД 118-02-90)». Затем появились первые утвержденные методики проведения биотестирования с использованием в качестве тест-объектов инфузорий и ракообразных (ПНДФ Т 14. 1:2:3:4.2 98, ПНДФ Т 99, ПНДФ Т 14.1:2:3:4 99) и методики для определения экотоксичности вод, почв и донных отложений с использованием в качестве тест-параметра ферментативную активность бактерий.

В настоящее время разработка и применение различных методов биотестирования активно продолжается [83]. Во многом этому способствовало основание в 1979 году Международной организации SETAC (The Society of Environmental Toxicology and Chemistry), как форума для междисциплинарного общения ученых: биологов экологов, химиков, медиков, токсикологов, а также менеджеров, инженеров и других лиц, интересующихся проблемами охраны окружающей среды. Основным принципом SETAC является использование междисциплинарного научного подхода к поиску решений различных экологических проблем. В августе 2023 года под эгидой SETAC на факультете Почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова прошел IV Международный Симпозиум «Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения», где были представлены доклады ведущих на сегодняшний день исследователей в области биодиагностики.

Основным преимуществом методов биодиагностики является то, что при проведении экологически ориентированных исследований важны не столько сами уровни воздействий, сколько те биологические эффекты, которые они могут вызывать, и о которых не может дать информацию даже самый точный химический анализ [71]. Эти методы в ряде ситуаций позволяют быстро оценивать качество окружающей среды и наличие загрязнений, не обнаруживаемых только химико-аналитическими методами. Многокомпонентность и отсутствие заведомо четких представлений о химическом составе загрязненных природных объектов, ограниченное число разработанных и утвержденных предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в компонентах природной среды, значительные затраты труда, времени и средств на проведение химико-аналитических исследований, необходимость проведения широкого круга определений представляют сложность оценки экологического состояния объектов. В итоге в составе анализируемых сред (воды, почвы, отходов и прочих) можно определить большое количество веществ, но не выявить наиболее опасное вещество, обуславливающее токсичность этой среды. Подобные исследования зачастую имеют крайне ограниченное значение для прогноза и оценки состояния живых организмов, сообществ или анализируемой экосистемы в целом. Во многом избежать влияния недостатков химико-аналитических методов позволяет использование так называемой экотоксикологической оценки, осуществляемой методами биодиагностики [17].

В общем случае биодиагностика – выявление причин или факторов изменения состояния среды на основе видов-биоиндикаторов с узко специфичными реакциями и отношениями. Биодиагностика традиционно подразделяется на биоиндикацию и биотестирование [46]. Биоиндикация заключается в обнаружении и определении экологически значимых природных и антропогенных нагрузок на основе реакций на них живых организмов непосредственно в среде их обитания, то есть в полевых условиях [29]. Биотестирование представляет собой процедуру

установления токсичности среды с помощью тест-объектов (живых организмов), сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов [48]. Биотестирование осуществляется экспериментально с использованием, как правило, стандартизованных лабораторных тест-систем, путем регистрации изменений биологически важных показателей (тест-реакций) под воздействием исследуемых проб с последующей оценкой их состояния в соответствии с выбранными критериями токсичности [17].

На данный момент в сфере оценки биологической значимости загрязнителей весьма эффективным методом общепризнано считается биотестирование [49, 71, 85], принцип которого в широком смысле основан на чувствительности и реакции живых организмов к экзогенному воздействию токсических веществ. Основная задача биотестирования заключается в определении воздействия исследуемых сред на выбранные виды организмов в стандартных условиях и выявлении различных физиологических или биологических тест-реакций. Этот отклик является закономерно возникающей ответной реакцией тест-системы на воздействие негативных внешних факторов. Критерием токсичности служит количественное выражение тест-реакции – тест-параметр, на основании которого делают вывод о токсичности исследуемых веществ [45]. Известно много биотестов с использованием различных объектов, начиная от одноклеточных водорослей, бактерий и простейших, и заканчивая высокоорганизованными животными [83]. Биотестирование считается эффективным методом оценки потенциальной опасности химического, физического или биологического воздействий на различные компоненты природной среды. Биотесты проводятся для определения общей токсичности, мутагенности и канцерогенности. Воздействие в тест-системе оценивается посредством имитации возможных путей поступления вредного вещества в организм. Следует еще раз подчеркнуть, что биотестирование подразумевает исключительно лабораторный эксперимент на чувствительных и строго регламентированных тест-объектах [17].

При проведении экологоориентированных исследований и изысканий, при оценке экологического состояния песчаных грунтов, биотестирование должно быть обязательным, поскольку позволяет диагностировать биологически значимые содержания загрязняющих веществ и выявлять наличие токсического эффекта различных их комбинаций и пороговых значений. В связи со всем вышеизложенным, становится очевидной актуальность разработки подходов к биотестированию дисперсных грунтов, во-первых, позволяющих интегрально оценить их экологическое состояние и воздействие на живые организмы, являющиеся, во-вторых, законодательной основой для экспериментальной оценки их класса опасности как отходов. При этом встает задача поиска методических подходов к биотестированию, исходя из конкретных целей дальнейшего использования этих грунтов. Как правило, согласно

существующим нормативам, биотестирование грунтов-отходов в настоящее время проводится только на основе их водной вытяжки. Тогда как с позиций грунтоведения, очевидно, что для адекватной оценки подобных образцов необходимо оценивать в биотест-системе и твердый компонент грунтов [16, 17].

Несомненной в перспективе использования методов биодиагностики для дисперсных грунтов видится необходимость расширения спектра применяемых тест-организмов. В идеале, с биологической точки зрения, исследования должны проводиться на организмах из всех основных трофических уровней: продуцентах, консументах и редуцентах, о чем неоднократно отмечалось в работах В.А. Тереховой [84, 85] и ряда других исследователей [17, 45].

Однако, вопрос выбора тест-организмов остается открытым. Если в отношении почвенных горизонтов оправданным является использование высших растений, почвенной мезофауны, то в отношении дисперсных грунтов применение подобных объектов видится не всегда логичным. Результаты многочисленных экспериментов позволяют утверждать, что наиболее приемлемы в лабораторной практике грунтоведения методы биотестирования, предполагающие использование в качестве тест-организмов высшие растения [144]. Как было показано в работе [45], информативность высших растений при решении задач биотестирования связана со следующими положениями: эукариотическое состояние – структурное и морфологическое сходство X-хромосомы растений с хромосомами млекопитающих, включая человека; у растений и млекопитающих отмечается сходная чувствительность к мутагенам; короткий жизненный цикл; относительная дешевизна, особенно по сравнению с тестами на других объектах; возможность проводить исследования *in situ*. Таким образом, фитотоксичность (свойство исследуемого субстрата подавлять рост и развитие высших растений) является одним из интегральных показателей загрязнения анализируемой среды, и позволяет качественно оценить наличие острого токсического эффекта. Кроме того, в пользу применения в качестве тест-организма высших растений может говорить и хрестоматийный пример болезни итай-итай. Как известно, в случае массового хронического отравления жителей префектуры Тояма кадмием, поступающим в реку Дзиндзу из шахт рудника Камиока, первой отреагировала на токсическое воздействие повышенных концентраций этого металла именно агрокультура риса [17].

Разновидностью биотестирования, при котором в качестве тест-объекта используются высшие растения, является фитотестирование. Данный вид биотестирования используется достаточно давно для определения качества, плодородности почв сельскохозяйственных угодий, в биомедицине и относительно недавно данный метод стал применяется для оценки экотоксичности природных сред [49].

На данный момент известно значительное количество методических рекомендаций по различным вариантам применения семян высших растений в фитотестах. Однако, для целей

государственного и производственного экологического контроля качества почв и грунтов в реестре природоохранных нормативных документов (ПНД Ф) нет аттестованных методик фитотестирования [45].

Среди различных методов фитотестирования выделяются в основном три большие группы основанные на масштабности проведения эксперимента: вегетационные, микроделяночные и лабораторные. Именно лабораторные методы в настоящее время приобретают большую актуальность, так как они наиболее экспрессные и требуют минимального количества экономических затрат. Данный факт подтверждает также ряд публикаций, в которых доказываются преимущества лабораторных методик [10, 102]. Основными требованиями, предъявляемыми к реализации фитотестирования, являются: экспрессность, доступность и простота экспериментов, воспроизводимость и достоверность полученных результатов, экономичность во всех отношениях и объективность полученных данных [47].

В РФ наиболее распространенным является вариант проведения лабораторного фитотестирования и проращиванием семян тест-культуры в чашках Петри. Согласно международному стандарту ISO–11269-1, семена замачивают и переносят в сосуды для выращивания, после чего субстрат вымывается и определяются заранее выбранные тест-параметры у высшего растения [45]. Данная методика предполагает возникновение значительных трудностей у исследователя при измерении тест-параметров у каждого семени, и, очевидно, такой способ является весьма трудозатратным, также при проращивании семян в чашках Петри отсутствует желаемая наглядность развития растения в условиях негативного экзогенного воздействия.

Для повышения экспрессности и наглядности эксперимента многие исследователи предлагают использование прозрачных пластмассовых планшетов, в которых растение экспонируется вертикально (рисунок 7). В данных планшетах семена развиваются в «двухмерном пространстве», что упрощает измерение итоговых показателей исследуемых тест-параметров [83]. Подобная методика с использованием планшетов была также предложена зарубежными учеными [111, 133, 135, 137]. Данная схема позволяет по истечении срока экспозиции оперативно измерить определяемые тест-параметры и в дальнейшем перейти к статистической обработке.



Рисунок 7. Экспозиция тест-культуры в пластмассовом планшете по методике аппликатного фитотестирования

Преимущества методики планшетного фитотестирования перед другими лабораторными биотестами бесспорны, в связи с этим в законодательстве РФ в 2019 г. был принят документ – ГОСТ Р ИСО 18763 – 2019 «Качество почвы» [13], в котором был регламентирован аппликатный метод фитотестирования для оценки экотоксикологических параметров проб грунтов и почв. Наряду с данным методом, предполагающим непосредственный контакт семян используемых тест-культур с исследуемым субстратом, многими исследователями в практике определения биологической значимости уровня и состава загрязнения грунтовых систем применяется элюатный метод, при котором вегетационный эксперимент проводится с использованием водной вытяжки из грунта в качестве субстрата для прорастания семян. Однако, ввиду того, что грунт является многокомпонентной динамичной системой, исследования по определению токсического воздействия загрязняющих веществ на высшее растение следует производить, применяя планшетный аппликатный (контактный) метод, так как по результатам прошлых исследований [17, 50] именно данный метод фитотестирования дает полную информацию об

уровне токсического воздействия и биологической значимости загрязняющих веществ в грунтовой системе.

Таким образом, можно утверждать, что экотоксикологическая диагностика грунтов при оценке уровня и характера загрязнения должна производиться, как с применением химико-аналитических методов, предполагающих последующее сравнение полученных результатов с нормативами (ПДК, ПДУ), так и учитывать биологическую значимость загрязнителей, используя биотестирование. При использовании в качестве исследуемого субстрата песчаных грунтов рационально применять метод биотестирования на высших растениях – фитотестирование. Ввиду того, что грунт является многокомпонентной динамичной системой, исследования по определению токсического воздействия загрязняющих веществ на высшее растение следует производить с обязательным применением планшетного аппликатного метода, так как именно данный метод фитотестирования дает более полную информацию об уровне токсического воздействия и биологической значимости загрязнения.

3.2. Анализ эффективности применения высших растений для фитотестирования песчаных грунтовых систем

В практике определения острого и хронического токсического эффекта, основываясь на актуальных на сегодняшний день нормативных документах, используется широкий спектр культур однодольных и двудольных высших растений (таблица 1). В сфере применения фитотестирования, как одного из методов оценки острой токсичности и биологической значимости загрязняющих веществ в грунтах, используется большое количество различных тест-культур [13, 14]. Выбор растения зависит от многих параметров, также необходимо учитывать особенности реакции каждого отдельного вида растения на различные типы загрязнителей. Помимо этого, некоторые авторы советуют использовать в качестве тест-культуры семена растений, которые наиболее характерны для исследуемого типа почв. Например, в работе Ю.С. Ананьевой и А.С. Давыдова рекомендуется использовать семена пшеницы (*Triticum spp.*) для экотоксикологической оценки черноземных почв [2]. Согласно МР 2.1.7.2297-07 «Обоснование класса опасности отходов...» при проведении лабораторных фитотестов следует использовать семена овса (*Avena spp.*), так как они дают наиболее стабильные и воспроизводимые результаты, по сравнению с семенами других культур (*pp. Pisum, Cucumis, Daucus* и др.) [45].

Таблица 1

Используемые тест-культуры высших растений при оценке острой и хронической токсичности

Тест-культура		Нормативные документы							
		острая токсичность			хроническая токсичность				
		ISO 11269-1	ISO 17126	ISO 11269-2	ISO 18763	OECD 208	EPA 850.4100	EPA 850.4230	OECD 227
Двудольные растения	<i>Apiaceae (Umbelliferae) Daucus carota (Carrot)</i>	Морковь							
	<i>Asteraceae (Compositae)</i>	<i>Helianthus annuus (Sunflower)</i>	Подсолнечник						
		<i>Lactuca sativa (Lettuce)</i>	Салат						
	<i>Brassicaceae (Cruciferae)</i>	<i>Sinapis alba (White Mustard)</i>	Горчица белая						
		<i>Brassica campestris var. chinensis (Chinese Cabbage)</i>	Китайская капуста						
		<i>Brassica napus (Rape, Turnip)</i>	Репа						
		<i>Brassica oleracea var. capitata (Cabbage)</i>	Капуста						
		<i>Brassica rapa (Field mustard, Canola)</i>	Рапс						
		<i>Lepidium sativum (Cress)</i>	Кресс-салат						
		<i>Raphanus sativus (Radish)</i>	Редис						
		<i>Chenopodiaceae Beta vulgaris (Beetroot)</i>	Свекла						
		<i>Cucurbitaceae Cucumis sativus (Cucumber)</i>	Огурец						
	<i>Linaceae Linum usitatissimum (Flax)</i>	Лен							
	<i>Malvaceae Gossypium spp. (Cotton)</i>	Хлопок							
	<i>Polygonaceae Fagopyrum esculentum (Buckwheat)</i>	Гречиха							
	<i>Solanaceae Solanum lycopersicum (Tomato)</i>	Томат							

		Тест-культура	Нормативные документы								
Однодольные растения	Двудольные растения		острая токсичность		хроническая токсичность						
		ISO 11269-1	ISO 17126	ISO 11269-2	ISO 18763	OECD 208	EPA 850.4100	EPA 850.4230	OECD 227	EPA 850.4150	ISO 22030
	<i>Fabaceae (Leguminosae)</i>	<i>Glycine max (G. soja) (Soyabean)</i>	Соевые бобы								
		<i>Phaseolus aureus</i> (Mung bean)	Бобы Маш								
		<i>Phaseolus vulgaris</i> (Garden bean)	Фасоль садовая								
		<i>Pisum sativum</i> (Pea)	Горох								
		<i>Trigonella foenum-graecum</i> (Fenugreek)	Пажитник								
		<i>Lotus corniculatus</i> (Birdsfoot trefoil)	Трилистник птичьей лапки								
		<i>Vicia sativa</i> (Vetch)	Горох посевной, вика								
		<i>Medicago sativa</i> (Alfalfa)	Люцерна посевная								
		<i>Trifolium pratense</i> (Clover)	Клевер луговой								
	<i>Liliaceae (Amaryllidaceae)</i>	<i>Allium cepa</i> (Onion)	Лук								
Poaceae (Gramineae)		<i>Avena sativa</i> (Oat)	Овес								
		<i>Hordeum vulgare</i> (Barley)	Ячмень								
		<i>Lolium perenne</i> (Perennial ryegrass)	Райграс многолетний								
		<i>Oryza sativa</i> (Rice)	Рис								
		<i>Secale cereale</i> (Rye)	Рожь								
		<i>Sorghum bicolor</i> (Grain sorghum, shattercane)	Сорго зерновой, тростниковый								
		<i>Triticum aestivum</i> (Wheat)	Пшеница								
		<i>Zea mays</i> (Corn)	Кукуруза								
		<i>Festuca rubra</i> (Fescue)	Овсяница красная								

На кафедре агрохимии МГУ имени М.В. Ломоносова апробирован метод определения суммарной токсичности почвы с использованием семян редиса (*p. Raphanus*) [67]. Преимущества данного вида объясняются высокой степенью отзывчивости семян на токсические вещества [45]. Также во многих работах отечественных и зарубежных авторов [62, 113, 139, 142] в качестве тест-культуры используется кресс-салат (*Lepidium sativum*). Данное растение показало хорошую информативность и биологический отклик при различных видах одиночных и комплексных загрязнений.

Среди исследований эффективности применения различных тест-культур при фитотестиировании в последнее время становятся популярны методы повышения точности определения искомого токсического эффекта [115, 127, 143, 145, 147, 151] за счет внесения в исследуемую грунтовую систему органических соединений и различных гидрогелей. Так, при сравнении результатов фитотестиирования с использованием горчицы белой (*Sinapis a.*), с учетом добавлением в исходный песчаный грунт биогумуса в концентрации 10 масс. % сопоставимость и достоверность полученных эффектов фитотоксичности оказалась на 25 % выше, чем в варианте эксперимента без добавления органики [143]. Однако, стоит отметить, что авторы не рассматривали взаимодействие компонентов загрязнителей с вносимыми в систему веществами.

Развитие адаптивных механизмов в ходе роста и развития высших растений является одним из ключевых факторов при оценке итоговой биологической значимости того или иного вида загрязнения. Используемые при фитотестиировании виды должны сохранять определенный уровень чувствительности к экзогенному абиотическому стрессу, вызванному конкретным загрязняющим веществом или их комбинацией. В результате масштабных исследований, проведенных J. Gorsuch [121] было выявлено, что при экотоксикологической оценке уровня загрязнения тяжелыми металлами методом фитотестиирования наибольшую восприимчивость показала однодольная тест-культура сорго сахарное (*Sorghum s.*), также автор отмечают высокий уровень корреляции полученных результатов.

В международном стандарте ISO 11269-1 для биотестиирования рекомендуется использовать ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare*), однако также оговорено, что следует выбирать минимум два вида растений, при этом одно должно быть двудольным, а другое однодольным [45].

Бельгийскими авторами [135] было предложено использование горчицы белой (*Sinapis a.*) как тест-культуры в методике определения фитотоксичности сред. В РФ, использование данной тест-культуры вместе с сорго сахарным (*Sorghum s.*), при проведении фитотестиирования аппликатным методом, регламентировано документом – ГОСТ Р ИСО 18763–2019.

Чувствительность горчицы белой (*Sinapis a.*) как тест-культуры по отношению к различным видам загрязнений подтверждается исследованиями некоторых зарубежных авторов. В

публикациях [117, 123] продемонстрировано, что горчица белая при загрязнении грунтовых систем нефтепродуктами или тяжелыми металлами показывает наилучшую чувствительность по сравнению с кресс-салатом (*Lepidium sativum*) и сорго-двуцветным (*Sorghum bicolor*). Также авторы отмечают преимущества двудольных растений над однодольными в чувствительности к загрязнению земель пестицидами, солями и нефтепродуктами.

Большой вклад в характеристику горчицы белой (*Sinapis a.*) как тест-культуры, применяемой при фитотестировании различных загрязненных сред, внесли исследования В.А. Тереховой вместе с другими специалистами [38, 102]. В ходе многочисленных экспериментов с использованием горчицы на различных образцах была показана целесообразность применения этой культуры, так как она продемонстрировала хорошую сходимость и воспроизводимость результатов.

Биологическая реакция тест-культуры на уровень и состав загрязнения в исследуемом субстрате оценивается путем измерения некоторого набора тест-параметров. В основном при анализе результатов фитотестирования используются следующие тест-параметры: всхожесть, энергия прорастания, длина корней, длина ростка [39].

При этом под всхожестью следует понимать способность семян давать за установленный срок нормальные проростки при определенных условиях проращивания. Число проросших семян выражают в процентах от общего числа. Энергией прорастания называют способность семян давать нормальные проростки за установленный ГОСТ [13] более короткий, чем для определения всхожести, срок. При определении длины корней и ростков у двудольных растений измеряют главный корень, выделяющийся толщиной, и росток [45].

В ходе продолжительных экспериментов, проводимых В.А. Тереховой и другими специалистами в лаборатории экотоксикологического анализа почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова, было показано, что наиболее чувствительным тест-параметром, по отношению к нефтезагрязнениям, загрязнениям солями и тяжелыми металлами, является длина корней. Также было отмечено, что достаточную чувствительность показывают такие тест-параметры как всхожесть и длина ростка [102]. Выбор данного набора также подтверждается исследованиями и публикациями зарубежных авторов планшетной методики фитотестирования [121, 134, 148].

*Таким образом, основываясь на опыте предыдущих исследований и исходя из требований нормативных документов, для проведения лабораторного варианта планшетного аппликатного фитотестирования в качестве тест-культур были выбраны: двудольное растение – горчица белая (*Sinapis a.*) и однодольное растение – сорго сахарное (*Sorghum s.*). Для оценки биологической реакции культуры на токсическое воздействие загрязняющих веществ были выбраны следующие тест-параметры: длина корня, длина ростка и всхожесть.*

Выводы к главе 3

1. Экотоксикологическая диагностика грунтов, при оценке уровня и характера загрязнения, должна производиться, как с применением химико-аналитических методов, предполагающих последующее сравнение полученных результатов с нормативами (ПДК, ПДУ), так и учитывать биологическую значимость загрязнителей, используя биотестирование. При использовании в качестве исследуемого субстрата песчаных грунтов рационально применять метод биотестирования на высших растениях – фитотестирование. Ввиду того, что грунт является многокомпонентной динамичной системой, исследования по определению токсического воздействия загрязняющих веществ на высшее растение следует производить с обязательным применением планшетного аппликатного варианта, так как именно данный метод фитотестирования дает более полную информацию об уровне токсического воздействии и биологической значимости загрязнения.

2. На основании предыдущих исследований и исходя из требований нормативных документов, для проведения лабораторного варианта планшетного аппликатного фитотестирования в качестве тест-культур выбраны: двудольное растение – горчица белая (*Sinapis a.*) и однодольное растение – сорго сахарное (*Sorghum s.*). Для оценки биологической реакции тест-культуры на токсическое экзогенное воздействие загрязняющих веществ выбраны следующие тест-параметры: длина корня, длина ростка и всхожесть.

Глава 4. Механизм взаимодействия зерен песчаного грунта с используемыми веществами-загрязнителями⁵

При рассмотрении взаимодействия любых видов химических веществ с грунтовой системой следует понимать, что грунт – гетерогенная химически и физико-химически активная система, составляющие компоненты которой находятся в постоянном взаимодействии между собой [81]. На поверхности раздела фаз в грунтовой системе могут происходить различные процессы, такие как адсорбция, ионный обмен, осмос, гидролиз и т.д. Возникновение и развитие подобного рода процессов напрямую зависит от дисперсности грунтовой системы и наличия некристаллических («аморфных») соединений [19, 51]. С уменьшением размера частиц их вовлеченность в химические и физико-химические процессы значительно возрастает. Следовательно, содержание коллоидных фракций амфорных компонентов в песчаной грунтовой системе может влиять на интенсивность физических, химических и физико-химических взаимодействий.

4.1. Особенности взаимодействия кварцевых зерен с водой

При взаимодействии песчаной грунтовой системы с водой возможна реализация различных физических процессов, однако большинство взаимодействий происходят на уровне системы, а не отдельных минеральных компонентов песка. Размер зерен кварца не позволяет им непосредственно вступать в химические и физико-химические взаимодействия с водой и различными вносимыми загрязняющими веществами. В данном случае участие поверхности кварцевого песка в данных процессах обеспечивает наличие в грунтовой системе коллоидных частиц аморфного кремнезема [19]. Образование подобных частиц коллоидной размерности может быть обусловлено морфологическими особенностями поверхности кварцевых зерен (рисунок 8), которые подтверждают возможность извлечения частиц (рисунок 9) из слабо окристаллизованных соединений, находящихся в дефектных и разрушающихся решетках минералов [4].

Аморфный кремнезем по своим уникальным свойствам схож с водой. Как указывает Р. Айлер [1], некоторые свойства воды и кремнезема настолько схожи, что наблюдается

⁵ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные в соавторстве, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

- Григорьева, И. Ю. Физико-химические процессы, происходящие на поверхности кварцевого песка при внесении загрязнения, и их влияние на Результаты фитотестирования / И. Ю. Григорьева, А. В. Морозов, М. А. Гладченко // Грунтоведение. – 2022. – № 2(19). – С. 27-39.
- Морозов, А. В. Влияние физико-химических процессов, происходящих в загрязненном песчаном грунте, на результаты фитотестирования с применением культуры горчицы белой (*Sinapis alba L.*) / А. В. Морозов, И. Ю. Григорьева, М. А. Гладченко // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: Материалы IV международного симпозиума, Москва, 28–31 августа 2023 года. – Москва: Постер-М, 2023. – С. 176-181.

постепенный переход между гидратированными кремневыми кислотами и матрицей воды. Данное сходство структуры аморфного кремнезема и воды позволяет сделать вывод, что между этими веществами могут происходить различные химические и физико-химические процессы и преобразования [19].

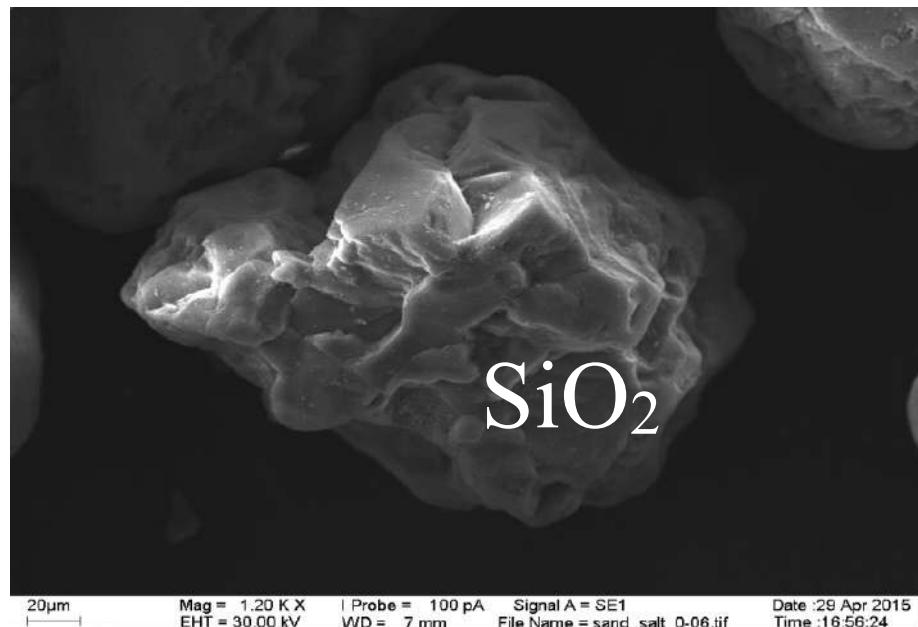


Рисунок 8. Морфологические особенности поверхности кварцевого зерна в исследуемом песчаном грунте. РЭМ – изображение, 1200–х кратное увеличение⁶

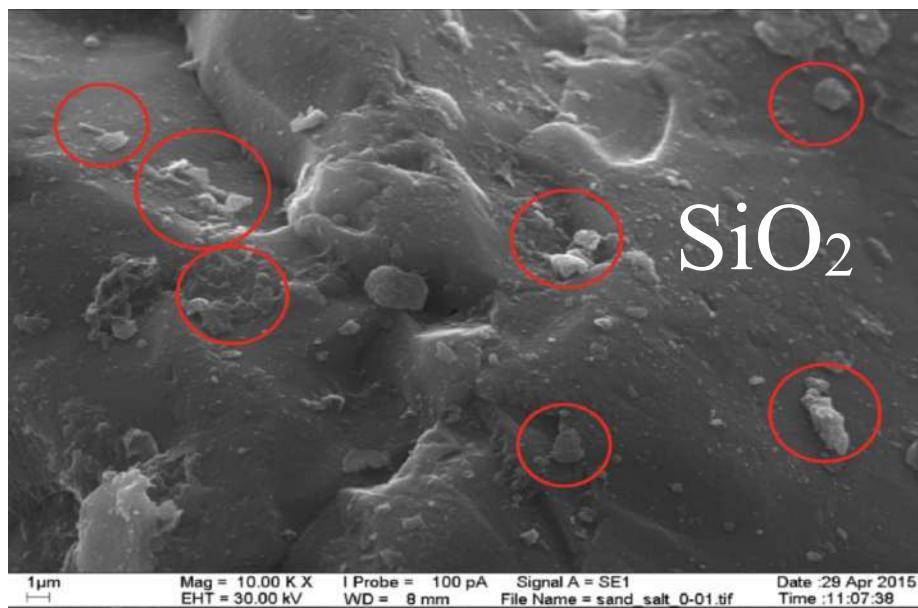


Рисунок 9. Частицы коллоидной размерности на поверхности кварцевого зерна. РЭМ – изображение, 10000–х кратное увеличение (пояснения см. в тексте)

⁶ Электронно-микроскопические и микрозондовые исследования выполнены М.С. Черновым в лаборатории грунтоведения и технической мелиорации грунтов, кафедры инженерной и экологической геологии, геологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова на оборудовании, приобретенном за счет средств Программы развития Московского университета

При взаимодействии поверхности кремнезема с водой по данным Г.В. Лисичкина [44] в различных соотношениях могут находиться пять видов групп:

1. Силанольная (связанная) вода – свободные, отдельно стоящие OH -группы (а);
2. Физически связанные вода – молекулы воды, имеющие водородные связи с силанольными группами (б);
3. Дегидратированные оксиды – силоксановые группы (в);
4. Близнецовые (геминальные) группы OH , связанные с одним атомом кремния (г);
5. Реакционноспособные вицинальные группы OH , преобладающие в тонкопористых кремнеземах – соседние, близко расположенные OH группы, связанные между собой водородной связью (д), (рисунок 10) [44].

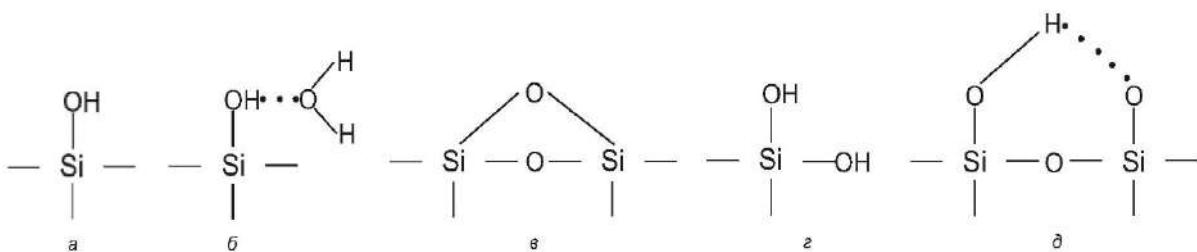


Рисунок 10. Виды функциональных групп на поверхности кремнезема [44] (пояснения см. в тексте)

Молекула воды при взаимодействии с поверхностью кварцевых зерен адсорбируется только на участках, содержащих гидроксильные группы, соответственно адсорбции воды на силоксановой поверхности не происходит. Исследованиями в области химии неоднократно показано, что полностью дегидроксилированная поверхность кремнезема гидрофобна [19]. Однако, при гидратации поверхности возможно образование силанольных групп из силоксановых, что приводит к формированию гидрофильных свойств, причем данный процесс полностью обратим (рисунок 11) [44].

Процесс перехода дегидратированной поверхности в гидроксилированную происходит, когда вода адсорбируется или хемосорбируется на свободных гидроксильных группах, имеющихся в незначительном количестве на поверхности кварцевых зерен, и по границе участков, на которых сорбирована вода, происходит раскрытие силоксановых мостиков с образованием силанольных групп, такие участки распространяются по поверхности в виде островков, сливаются друг с другом, и процесс идет до тех пор, пока вся поверхность не станет предельно гидроксилированной [44].

Наибольшей химической и физико-химической активностью среди соединений кремния обладает аморфный кремнезем. В песчаной грунтовой системе данное вещество встречается в виде коллоидных частиц, преимущественно располагающихся на поверхности более крупных минеральных образований. Аморфный тонкодисперсный кремнезем обладает максимальной растворимостью среди кремнийсодержащих минералов (50 – 60 мг/л). В процессе гидратации и дегидратации грунтовой системы возможно осуществление цикла перехода аморфного кремнезема в моно- и поликремниевые кислоты (рисунок 12) [66].



Рисунок 11. Схема обратимого процесса дегидратации реакционноспособных вицинальных групп на поверхности коллоидных частиц аморфного кремнезема [1]

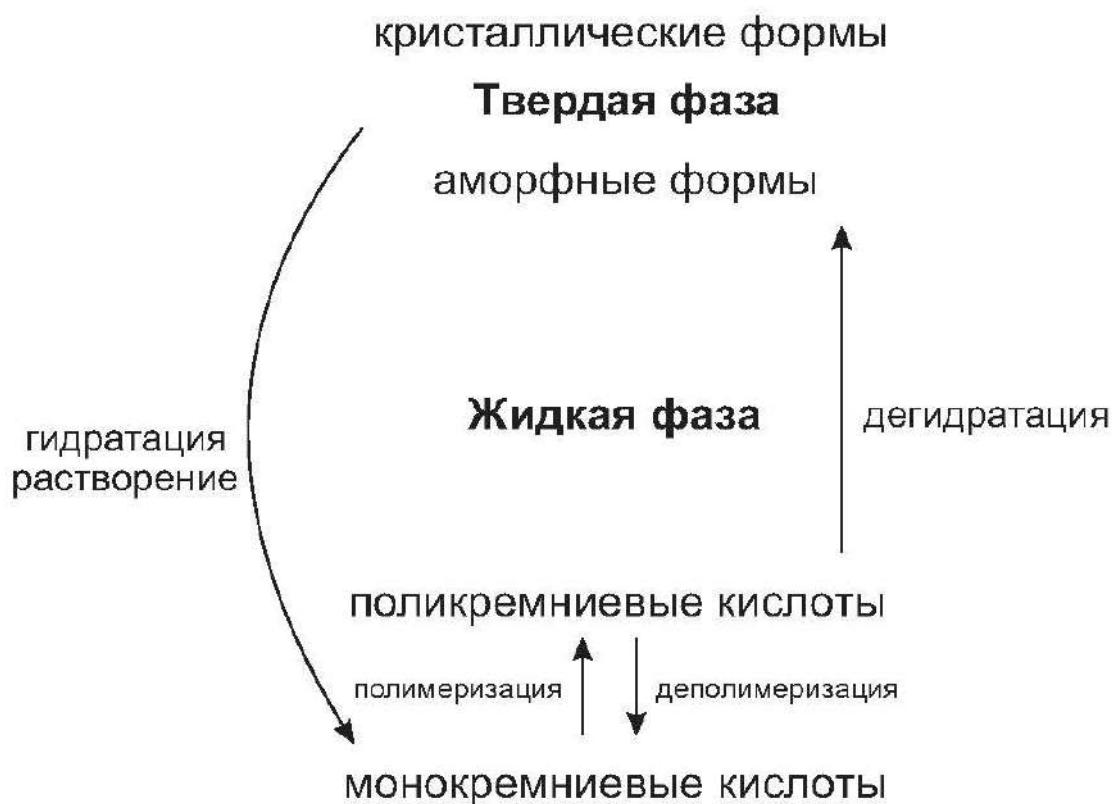


Рисунок 12. Схема кремниевого цикла в системе песчаного грунта [66]

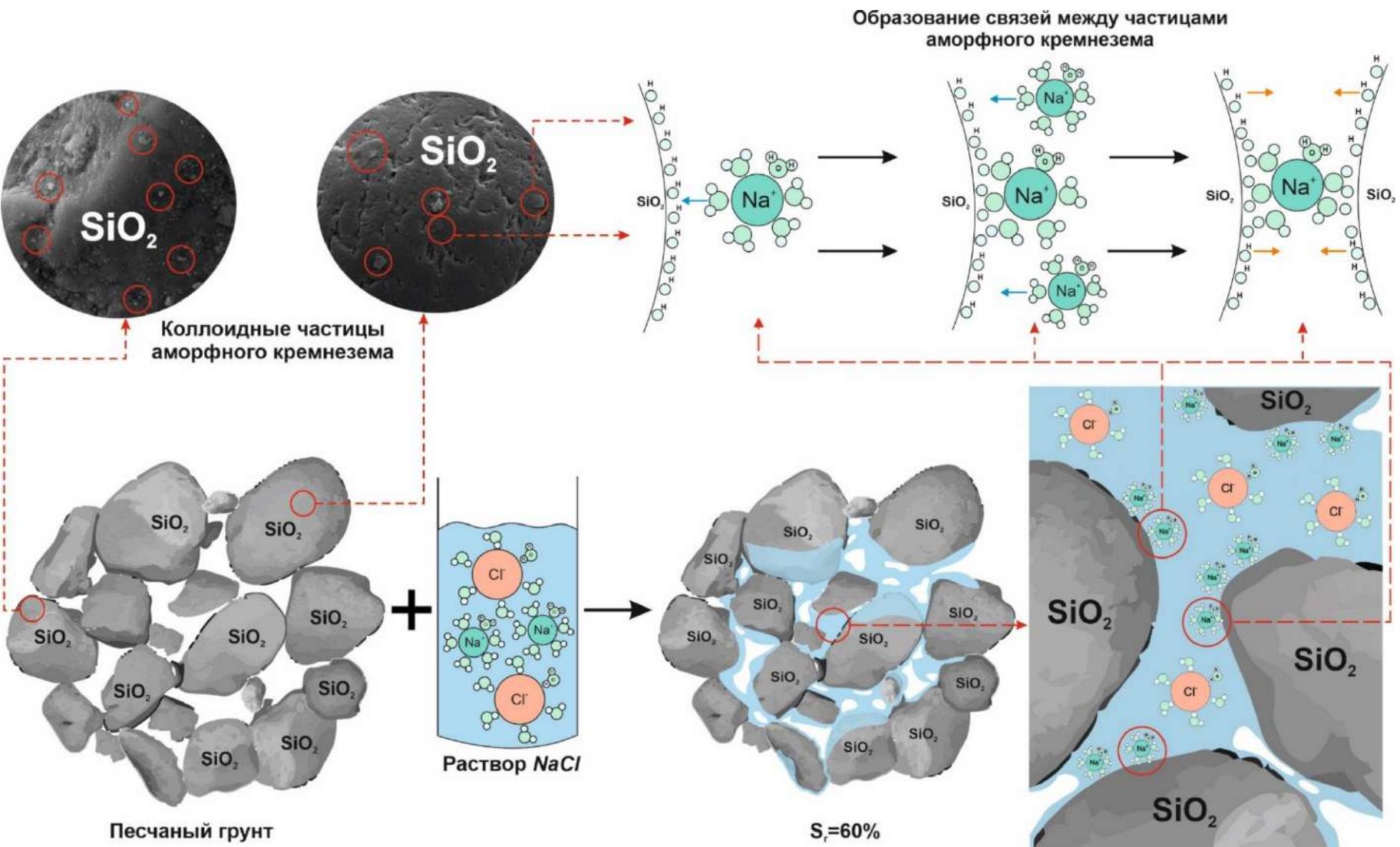
Цикл соединений кремния в грунтовой системе представляет собой цепочку обратимых процессов гидратации и полимеризации. В процессе полимеризации монокислот также может изменяться структура порового пространства в песчаной грунтовой системе, за счет способности поликремниевых кислот создавать цепочки и сферы, компенсируя избыточные заряды изгибом макромолекулы. В данном случае может происходить «склеивание» мельчайших частиц грунта в процессе адсорбции и формирования силоксановых мостиков.

Таким образом, при взаимодействии поверхности кварцевых зерен с водой, за счет процессов адсорбции и хемосорбции, молекулы связываются с кремнеземом, образуя полностью гидроксилированную поверхность. Определяющую роль в данном процессе играют коллоидные частицы аморфного кремнезема, которые при гидратации способны переходить в формы моно- и поликремниевых кислот. Процессы изменения форм кремнезема и преобладающего типа функциональных групп на поверхности при гидратации и дегидратации полностью обратимы.

4.2. Особенности взаимодействия раствора хлорида натрия ($NaCl$) с песчаной грунтовой системой

Основным источником солевого загрязнения песчаных грунтовых систем являются растворы различной концентрации и рассолы. Процесс растворения кристаллов хлорида натрия ($NaCl$) в водном растворе сводится к разрушению кристаллической решетки и переходу ионов хлора и натрия в раствор [19]. Схематически данный процесс представляется следующим образом: растворитель подходит к растворяемому веществу; расположенные на поверхности ионы гидратируются и вырываются из кристаллической решетки за счет сил притяжения гидратной воды и воды раствора, одновременно протекает гидролиз соли; в результате образуется пограничный слой, представляющий собой пленку насыщенного раствора; завершения процесса растворения заключается в диффузии раствора соли через пограничный слой, в таком случае процесс подчиняется законам молекулярной диффузии [55]. В итоге, в растворе находятся гидратированные ионы хлора и натрия, окруженные молекулами воды и именно в этом состоянии они начинают взаимодействовать с поверхностью кварцевых зерен и коллоидными частицами аморфного кремнезема (рисунок 13).

По представлениям Р. Айлера [1] при наличии в системе гидратированного иона натрия происходит процесс адсорбции на поверхности частицы аморфного кремнезема, при котором один или несколько атомов водорода молекул гидратной воды могут замещаться атомами водорода, принадлежащими поверхностным силанольным группам $SiOH$, так что последние оказываются непосредственно связанными с атомом натрия. Данные преобразования формируют нейтральный адсорбционный комплекс на поверхности [19].



Исходя из этого следует, что положительный заряд иона натрия способен нейтрализовать отрицательный заряд адсорбированного вблизи него гидроксил-иона, который в свою очередь определяет заряд на поверхности частиц аморфного кремнезема. Описанные взаимодействия позволяют полагать, что при определенной концентрации ионов вблизи поверхности частицы возможно замещение одной или более молекул воды, которые были связаны с ионом натрия с внешней стороны, а не у поверхности кремнеземной частицы, на поверхностные силанольные группы, принадлежащие второй вступающей в взаимодействие частице (рисунок 14) [19].

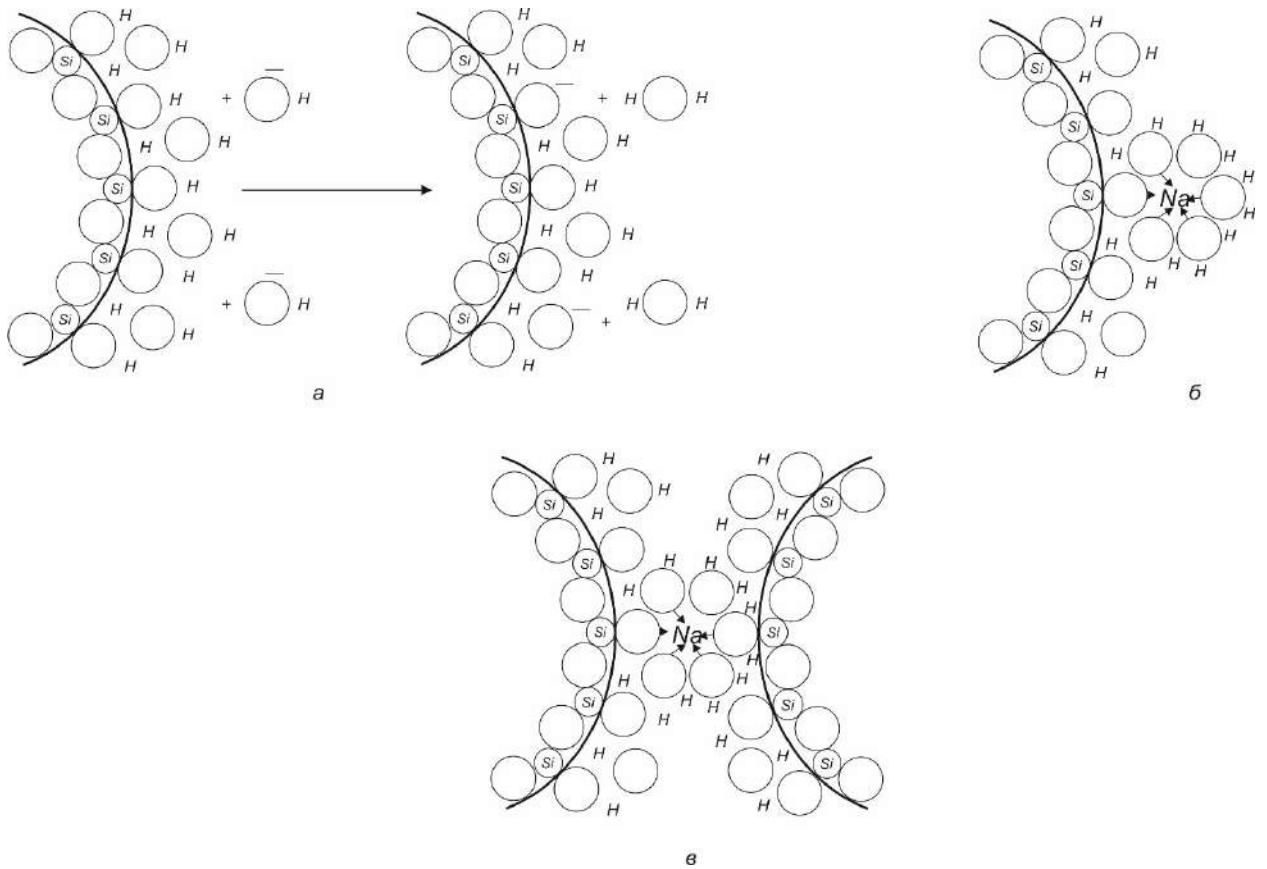


Рисунок 14. Схема образования связи между коллоидными частицами аморфного кремнезема посредством координации катионами натрия, вызывающими флокуляцию [1] (пояснения см. в тексте)

Описанный процесс протекает в три этапа: на первом (рисунок 14, а) гидроксил-ионы передают отрицательные заряды слою молекул воды, связанных водородной связью с силанольными группами, находящимися на поверхности частицы кремнезема, такой процесс эквивалентен адсорбции гидроксил-ионов на поверхности; на втором (рисунок 14, б) гидратированные ионы натрия адсорбируются на отрицательно заряженных участках поверхности, образуя нейтральные комплексы; на третьем этапе (рисунок 14, в) при взаимодействии с незаряженными участками поверхности второй частицы ион натрия

координирует кислородные атомы силанольных групп и кислородные атомы молекул воды, связанных с поверхностью, образуя координационную связь между частицами [1]. Таким образом, гидратированный ион натрия может способствовать образованию мостиковой связи между двумя частицами, причем контакт двух частиц только в двух точках допускал бы формирование цепочек. Следовательно, с возрастанием числа ионов натрия на поверхности, каждая частица может соприкасаться с окружающими ее другими в трех и более точках (вплоть до шести), что приведет к образованию агрегатов. Стоит отметить, что размер коллоидных частиц кремнезема по отношению к размерам атомов натрия гораздо больше, чем это показано на рисунке 14, поэтому между двумя частицами может сформироваться целая группа мостиковых связей [19].

По результатам микроструктурных исследований высушенных образцов песчаного грунта загрязненного раствором хлорида натрия в концентрации 0,5 % по массе наблюдается изменение характера поверхности кварцевых зерен (рисунок 15).

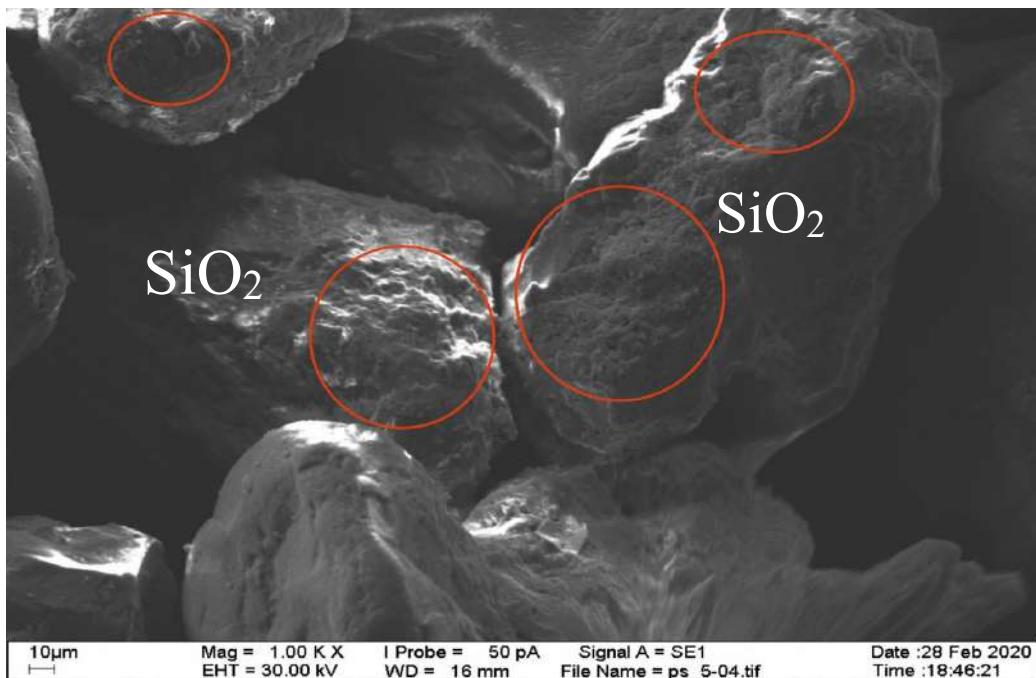


Рисунок 15. Морфологические особенности поверхности кварцевых частиц в грунте, загрязненном раствором хлорида натрия ($NaCl - 0,5\%$ по массе). РЭМ – изображение, 1000-х кратное увеличение

Причиной появления подобных структур на поверхности кварцевых зерен может являться описанный выше процесс формирования мостиковых связей, также в процессе дегидратации амфорный кремнезем переходит в твердую кристаллическую фазу. Подобные морфологические изменения поверхности вызваны кристаллизацией хлорида натрия из раствора и слипанием коллоидных частиц амфорного кремнезема. Параллельно с процессом взаимодействия гидратированного иона натрия с поверхностью кварца происходит описанный выше процесс

полимеризации монокислот кремнезема. Данной взаимодействие также способствует слипанию частиц коллоидной размерности, образованные агрегаты при дегидратации не разрушаются, ввиду прочной адсорбции поликислот на их поверхности [19].

Гидратированные ионы хлора, находящиеся в жидкой фазе в рассматриваемой песчаной грунтовой системе, не вступают в физико-химические взаимодействия с поверхностью коллоидных частиц амфорного кремнезема. В данном случае хлорид-ионы способны взаимодействовать с биотической компонентой грунтовой системы, оказывая специфическое токсическое воздействие.

Таким образом, образованные в процессе растворения гидратированные ионы хлора и натрия по-разному проявляют химическую и физико-химическую активность в системе. Ион натрия (Na^+) активно взаимодействует с поверхностью коллоидных частиц аморфного кремнезема, способствуя их сближению и формированию агрегатов. В свою очередь, гидратированный ион хлора (Cl^-) не вступает в химические и физико-химические взаимодействия с твердой фазой, причем, оставаясь в химически активной форме, способен взаимодействовать с составляющими биотической компоненты грунтовой системы.

4.3. Особенности взаимодействия углеводородного загрязнения с песчаной грунтовой системой

Жидкие углеводороды, в частности дизельное топливо, представляют собой своеобразную смесь парафиновых, наftenовых и сложных ароматических углеводородов. Парафиновые углеводороды – ряд соединений от пентана (C_5H_{12}) до декана ($C_{10}H_{22}$), и с химической точки зрения цепочки углеводородных групп имеют относительно небольшую длину. Наftenовые углеводороды – цикланы, в своей основе имеют метиленовые замкнутые цепи, они близки по насыщенности к алканам с открытыми цепями. Ароматические углеводороды – соединения, в молекуле которых содержится ароматическое ядро (бензольное кольцо), имеющие общую формулу C_nH_{2n-6} . В составе нефтепродуктов данные виды углеводородов могут образовывать целый ряд гомологичных структур различной сложности. Например, соединения наftenовых и ароматических углеводородов, к которым прикрепляются боковые диметильные группы (рисунок 16) [70].

В соответствии с теорией взаимодействия поверхности кварца с различными веществами Р. Айлера [1], внесение в качестве загрязнителя в песчаную грунтовую систему дизельного топлива инициирует процесс адсорбции за счет физических сил межмолекулярного взаимодействия (силы Ван-дер-Ваальса). Компоненты углеводородного загрязнения образуют водородные связи с поверхностью кварцевых зерен, однако в случае наличия нескольких точек присоединения молекулы к поверхности, образованные комплексы оказываются настолько

стабильными, что их можно рассматривать как хемосорбированные. Стоит отметить, что молекулярная масса компонентов углеводородного загрязнения (соответствующая длине CH цепочек) будет определять их потенциал к сорбции на поверхности кварцевых зерен (рисунок 17) [19].

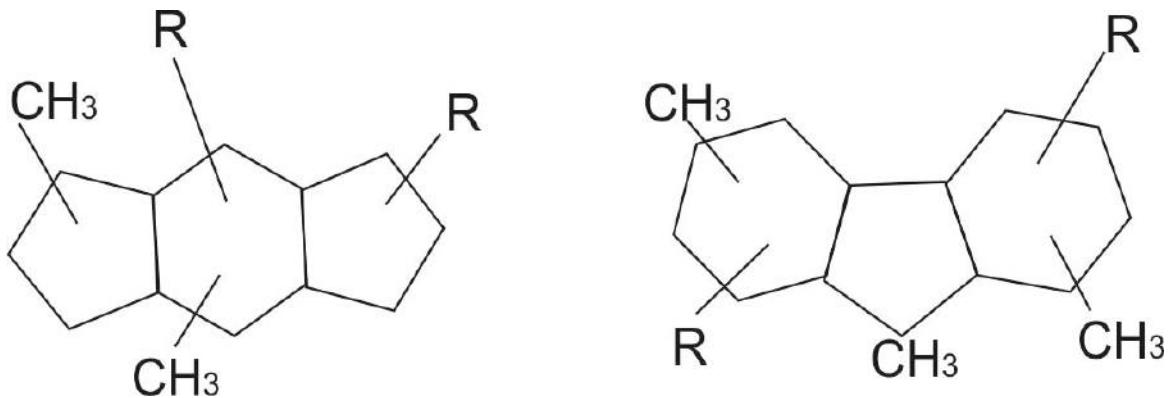


Рисунок 16. Варианты соединения циклических углеводородов с прикрепленными диметильными группами нефтепродуктов [70]

Адсорбция полярных молекул или ароматических соединений происходит посредством образования π -связей с поверхностными силанольными группами. Для наиболее стабильного закрепления полярных молекул поверхность кремнезема не должна содержать адсорбированную воду, так как центрами адсорбции углеводородных компонентов будут группы $SiOH$. Таким образом, при внесении в воздушно-сухой грунт дизельного топлива наблюдается явление физической адсорбции полярных молекул на поверхности кремнезема, при этом дегидратированная поверхность кварцевых зерен способствует образованию водородных связей, и при увеличении молекулярной массы взаимодействующих с поверхностью органических соединений усиливается прочность их сорбции [19].

По результатам проведения электронно-микроскопических исследований песчаного грунта, загрязненного дизельным топливом в концентрации 5 % по массе, обнаружено, что поверхность кварцевых зерен приобрела более сглаженный характер за счет эффекта своеобразного «обволакивания» углеводородными компонентами загрязнения (рисунок 18).

На основании анализа литературных данных [100] можно сделать вывод, что интенсивность процесса сорбции полярных молекул из-за образования водородных связей увеличивается благодаря практически полному отсутствию адсорбированной воды на поверхности аморфного кремнезема.

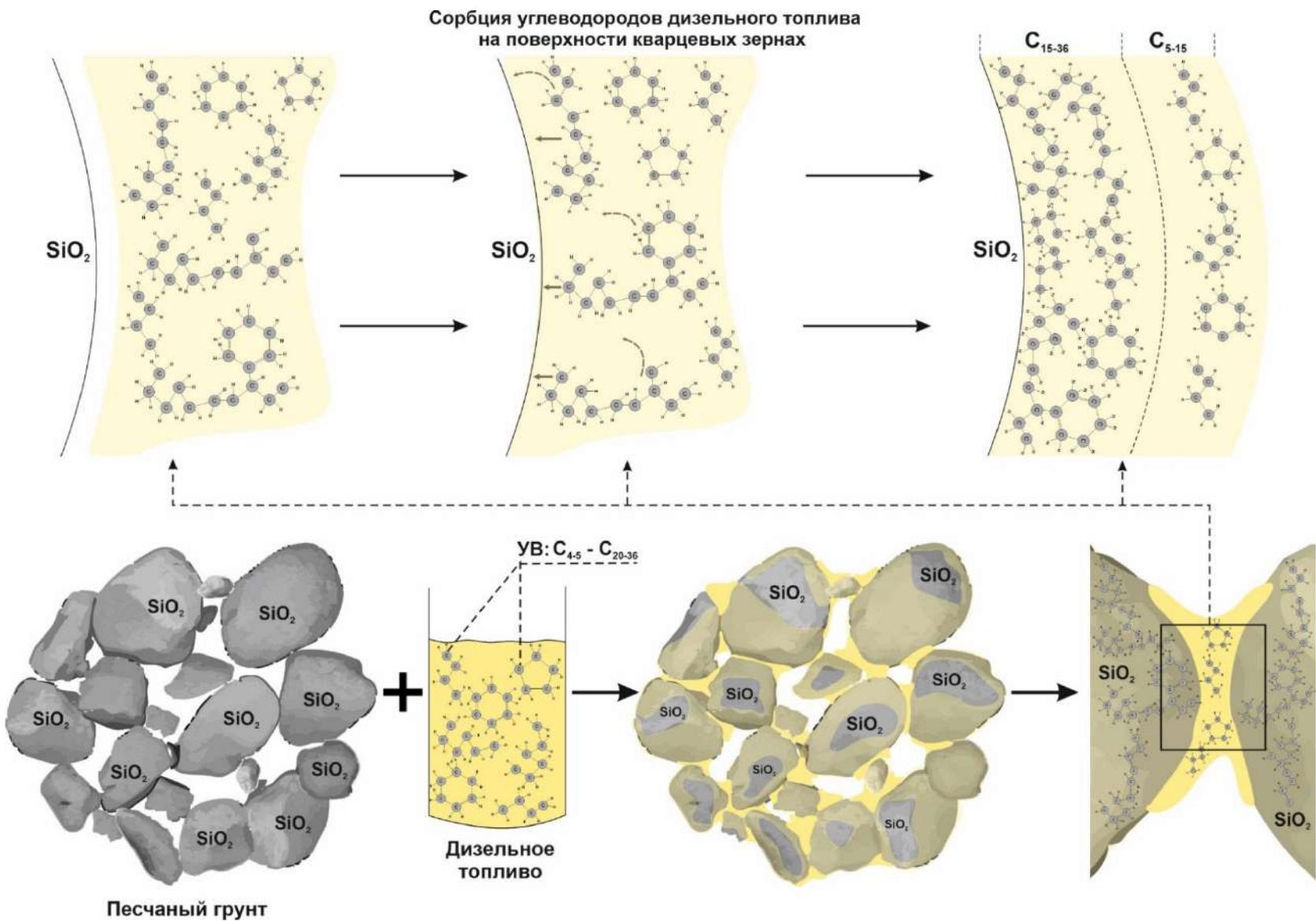


Рисунок 17. Схема взаимодействия углеводородного загрязнения в песчаной грунтовой системе

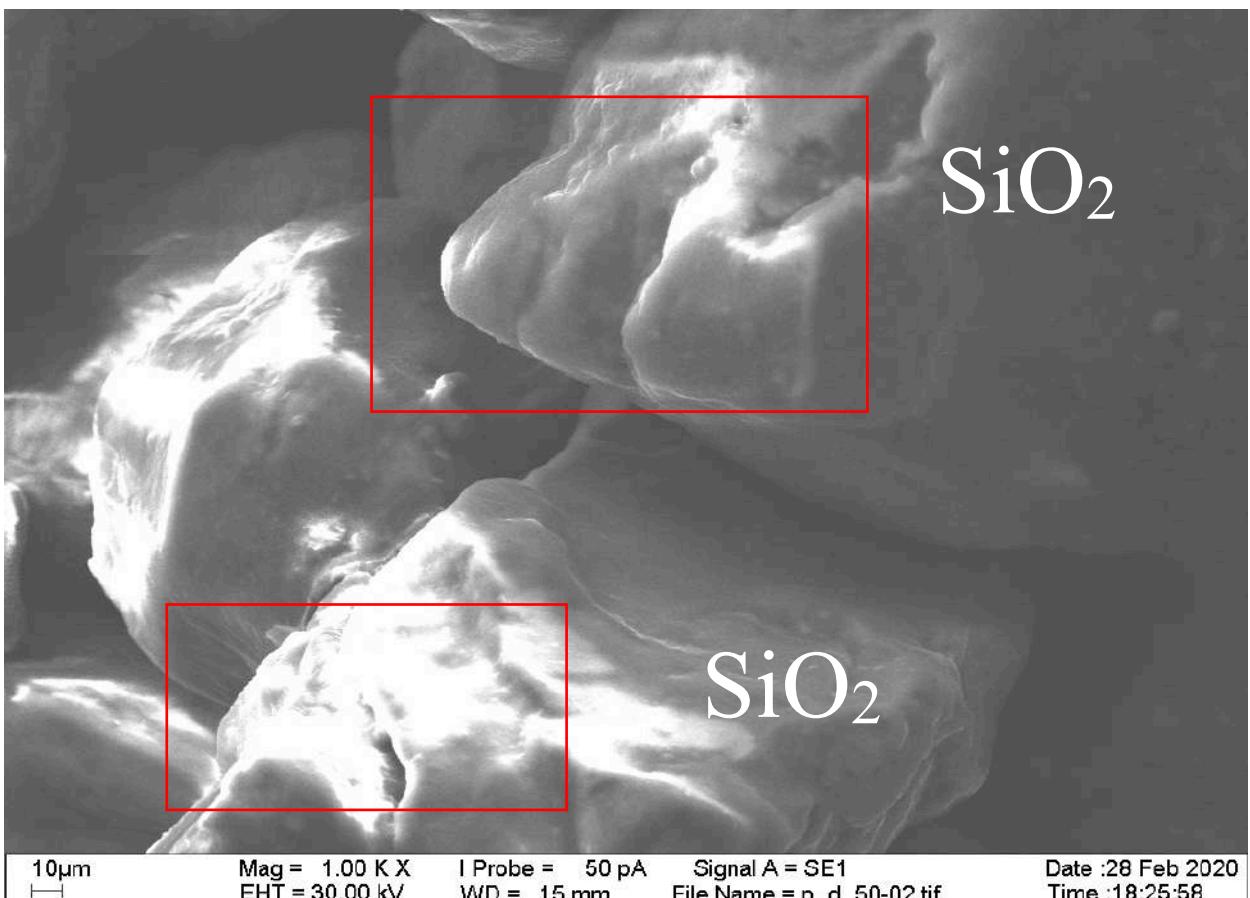


Рисунок 18. Морфологические особенности поверхности кварцевых зерен в грунте, загрязненном дизельным топливом в концентрации 5 % по массе. РЭМ – изображение, 1000-х кратное увеличение (пояснения см. в тексте)

Образуются моно- и полислойные покрытия поверхности кварцевых частиц, причем длина углеводородной цепочки определяет расположение и потенциальную силу адсорбции молекулы по отношению к поверхности кремнезема. Молекула бензола будет располагаться параллельно поверхности, как и молекулы ароматических соединений. Сила сорбции на $SiOH$ группах, в данном случае, может быть сравнима с поверхностным натяжением между углеводородами и водой, возникающим на границе раздела фаз [19].

С целью получения представления о толщине слоя сорбированных компонентов углеводородного загрязнения на поверхности кварцевых зерен в песчаном грунте возможно провести расчет на основе данных об экспериментально определенных значениях удельной поверхности и с учетом допущений о среднем размере молекулы углеводородов в составе дизельного топлива [19].

На основе литературных данных [122] было принято, что усредненная молекулярная формула компонента дизельного топлива – $C_{12}H_{23}$, в связи с этим длина полярных молекул равна 18,5 Å. При осуществлении расчета принимается допущение о том, что весь объем дизельного

топлива заполнен молекулами среднего размера, которые имеют сферическую форму. Для определения площади, которую способно покрыть мономолекулярным слоем дизельное топливо в количестве 1 масс. %, принято допущение, что сферические молекулы располагаются на всей поверхности кварцевых зерен максимально плотно к друг другу на расстоянии равном площади сечения молекулы. На основании расчета можно сделать вывод, что при внесении 0,01 г (1 масс. %) дизельного топлива в 1 г исследуемого песчаного грунта, учитывая все обозначенные допущения о структуре вещества, форме молекул и зерен кварца, может образовываться от 55 до 161 мономолекулярных слоев полярных молекул углеводородного загрязнения, в зависимости от удельной поверхности песчаного грунта.

Анализ литературных источников [1, 44] позволяет сделать предположение о том, что ввиду достаточно большой молекулярной массы средней молекулы дизельного топлива с формулой $C_{12}H_{23}$, она будет стремиться расположиться параллельно поверхности кремнезема, образуя большое количество водородных связей. В связи с этим толщина одного слоя, распределенных на удельной поверхности полярных молекул, может быть принята как размер атома углерода, который равен по данным L. Hadi [122] 0,7 Å. Таким образом, толщина пленки дизельного топлива при концентрации 1 масс. % в песчаном грунте равна от 39 до 113 Å (рисунок 19).

Исходя из проведенного расчета, можно считать, что при минимальной исследуемой концентрации дизельного топлива (1 масс. %) возможно полное покрытие поверхности песчаного грунта компонентами углеводородного загрязнения, повышение концентрации будет приводить к увеличению толщины слоя сорбированных полярных молекул [19].

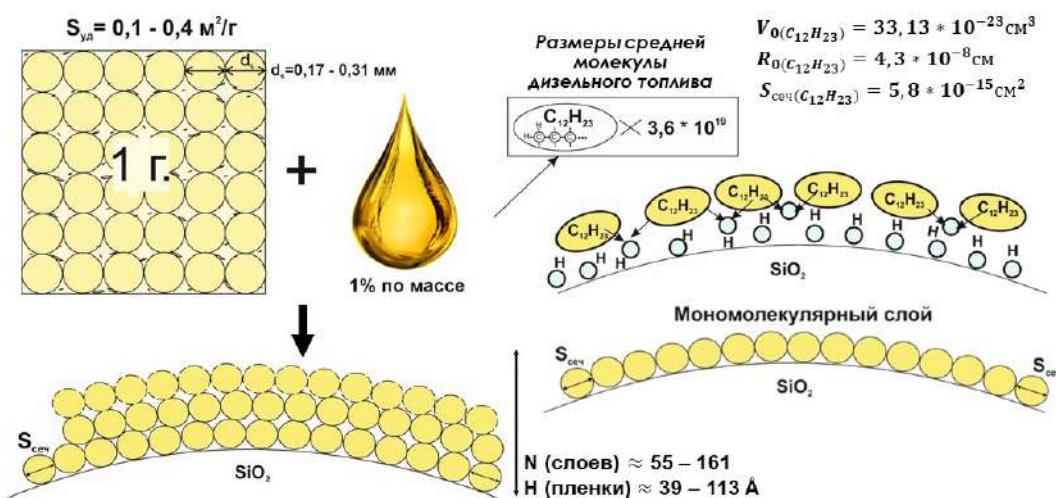


Рисунок 19. Схема расчета толщины «пленки» сорбированных компонентов углеводородного загрязнения на поверхности кварцевых зерен

На основании литературных данных, а также экспериментальных исследований [1, 72] можно заключить, что присутствие близко расположенных углеводородных групп на

поверхности кварцевых зерен будет усиливать ее гидрофобные свойства. Данный эффект обусловлен более высоким значением теплоты смачивания для органических молекул, чем для воды, в отношении дегидроксилированной поверхности кварцевых зерен. Теплота смачивания, в данном случае, зависит от возникающих ассоциаций между полярными группами органической молекулы и полярными силанольными группами, и ассоциаций углеводородных участков органической молекулы и гидрофобной силоксановой поверхности.

Таким образом, внесение дизельного топлива в песчаную грунтовую систему инициирует процесс физической адсорбции и хемосорбции полярных молекул на поверхности кремнезема, прочность закрепления которых зависит от их положения и числа водородных связей. В зависимости от концентрации углеводородного загрязнения, образуются моно- и полимолекулярные пленки. Прочно закрепленные органические молекулы усиливают гидрофобные свойства поверхности кварцевых зерен, снижают способность к их смачиванию. Описанные процессы также определяют характер поверхности кварцевых зерен, полученный по результатам электронно-микроскопических исследований.

4.4. Особенности взаимодействия комбинированного загрязнения с песчаной грунтовой системой

Внесение в песчаную грунтовую систему комбинированного загрязнения: раствора хлорида натрия и дизельного топлива закономерно приводит к возникновению взаимодействий как между двумя загрязняющими веществами, так и между поверхностью кварцевых зерен и загрязнителями.

На основе вышеизложенных механизмов взаимодействия рассматриваемых веществ-загрязнителей с поверхностью кварцевых зерен можно заключить, что аналогично одиночному загрязнению, внесение дизельного топлива в песчаную грунтовую систему сопровождается процессами физической адсорбции и хемосорбции полярных молекул на поверхности кремнезема. Внесение раствора хлорида натрия способно инициировать формирование мостиковых и силоксановых связей с поверхностью в присутствии гидратированного иона натрия (Na^+), а гидратированный ион хлора (Cl^-) находится в жидкой фазе в поровом пространстве [19].

Наличие в растворе гидратированного катиона натрия, может мешать приближаться к поверхности кремнезема молекулам адсорбируемого вещества. Размер гидратированного иона, при своем перемещении над заряженным участком поверхности кремнезема, способен препятствовать образованию водородных связей органических молекул с поверхностью (рисунок 20) [19].

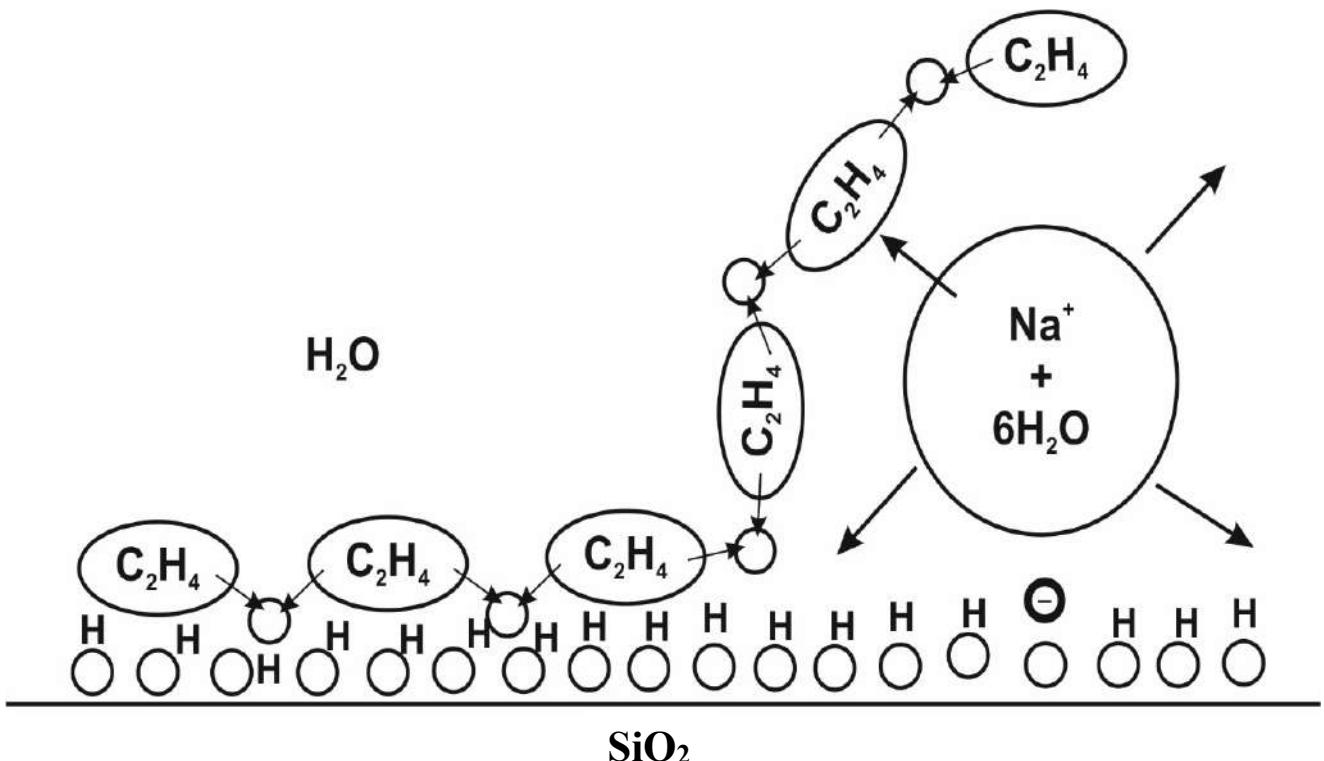


Рисунок 20. Схема уменьшения числа водородных связей между молекулой адсорбируемого вещества и поверхностью кремнезема около заряженных участков [1]

Подобные суждения согласуются с предположениями, высказанными в работе Р. Айлера [1]. Предположительно подобный процесс, уменьшающий количество образуемых водородных связей, будет снижать прочность закрепления компонентов углеводородного загрязнения на поверхности кварцевых зерен (рисунок 21).

Физическую природу взаимодействия раствора хлорида натрия и дизельного топлива можно рассматривать как образование эмульсий «раствор соли-дизельное топливо» и «дизельное топливо-раствор соли» в зависимости от соотношения содержания загрязняющих веществ. В соответствии с базовыми понятиями коллоидной химии [100] данные эмульсии при высыхании могут образовывать крупные хлопьевидные наросты на поверхности.

По результатам электронно-микроскопических исследований поверхности кварцевых зерен, в высшенном песчаном грунте наблюдаются масштабные образования с элементами кубических структур, распределенные по отдельным участкам зерен (рисунок 22) [19]. Форма и размер подобных образований соответствует предположению об образовании хлопьевидных агрегатов в процессе высыхания образованных эмульсий в песчаной грунтовой системе. Однако, стоит отметить, что химическая и физическая природа возникающих взаимодействий требует дополнительного экспериментального и теоретического изучения.

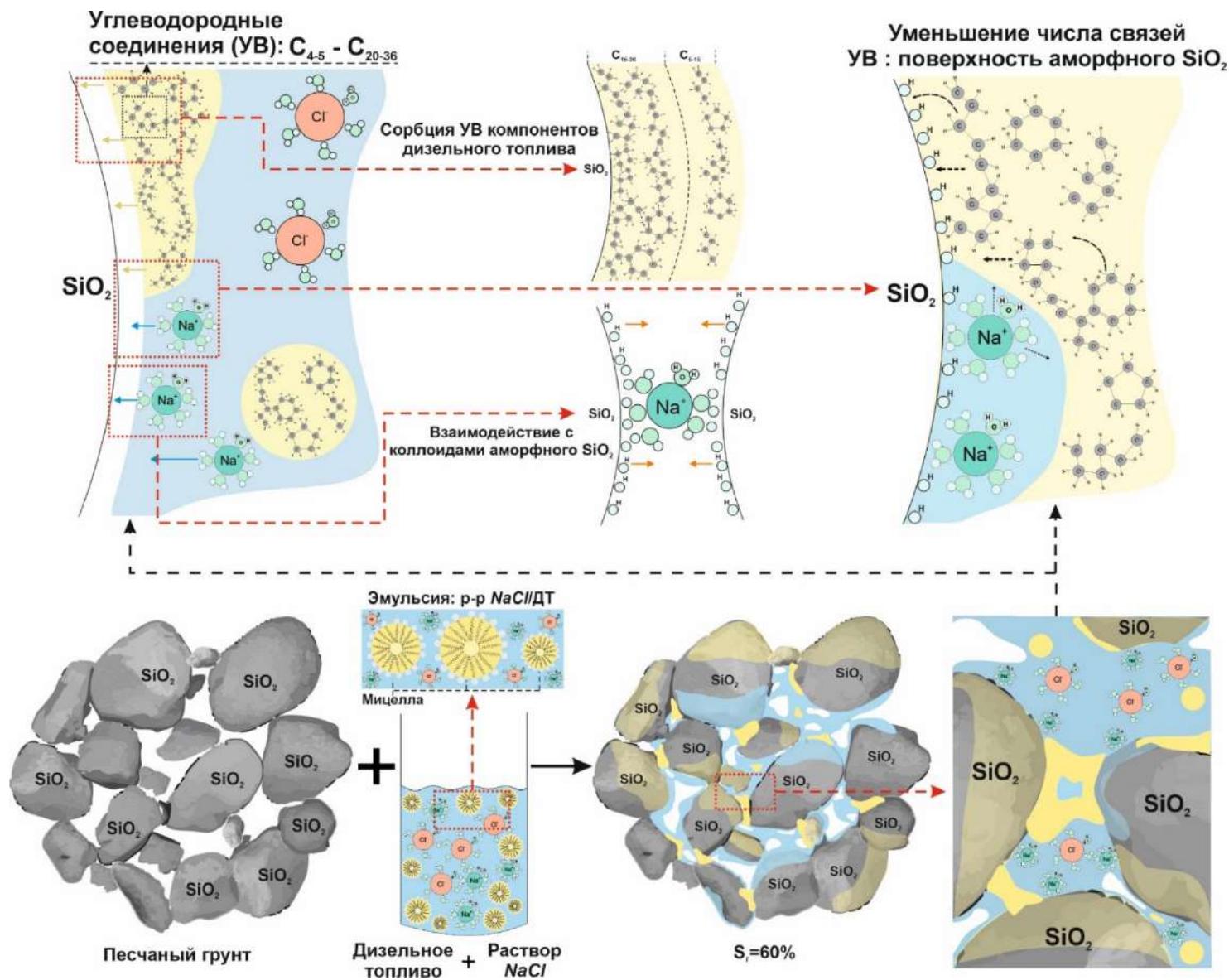


Рисунок 21. Схема взаимодействия комбинированного загрязнения в песчаной грунтовой системе

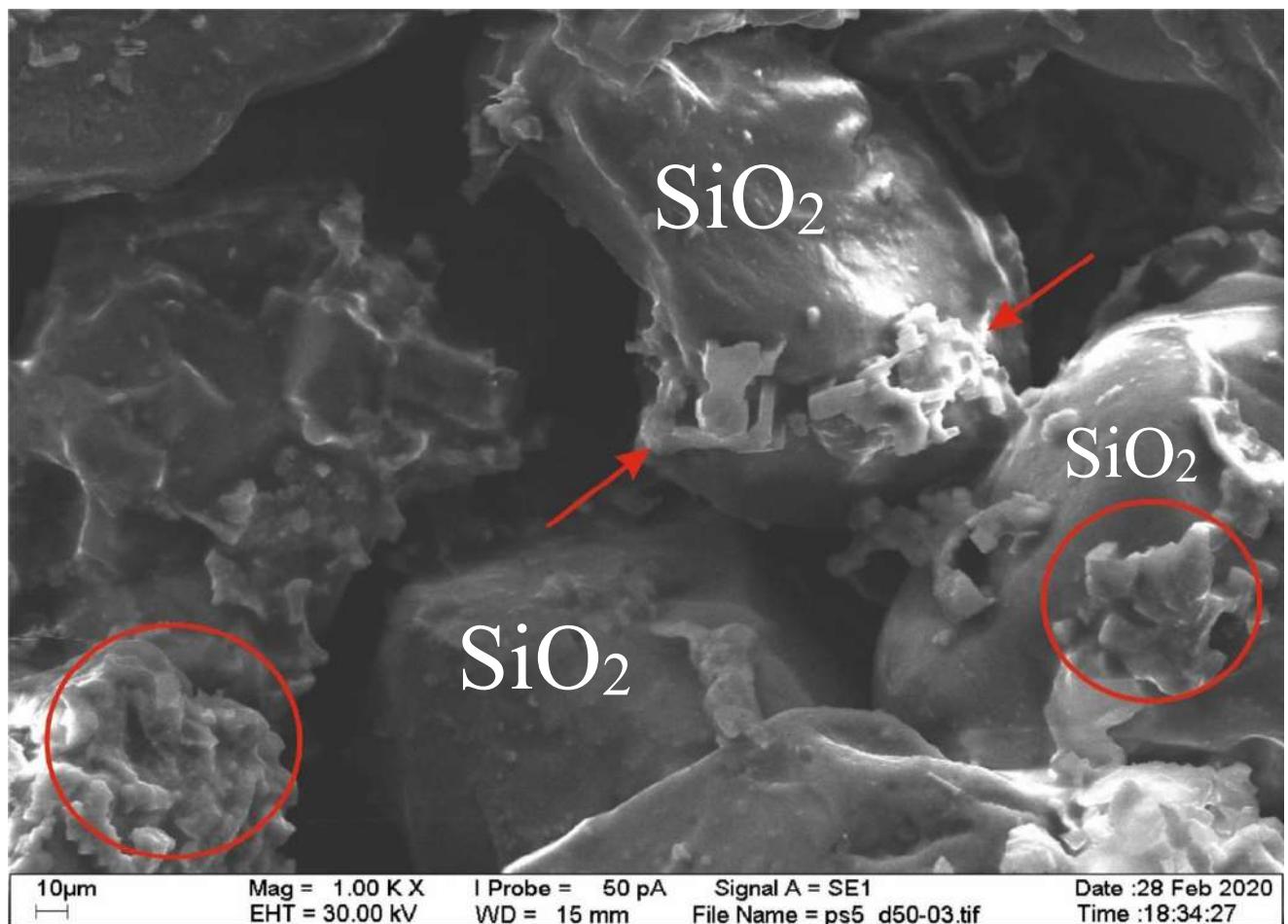


Рисунок 22. Морфологические особенности поверхности кварцевых зерен в грунте, загрязненном дизельным топливом в концентрации 3 % по массе и раствором $NaCl$ в концентрации 0,5 % по массе. РЭМ – изображение, 1000-х кратное увеличение (пояснения см. в тексте)

Таким образом, внесение в песчаную грунтовую систему комбинации дизельного топлива и раствора хлорида натрия приводит к инициации химических и физико-химических процессов взаимодействия веществ-загрязнителей с поверхностью кварцевых зерен, наблюдавшихся при одиночном загрязнении. Однако, наличие в растворе гидратированного иона натрия (Na^+) может препятствовать процессу адсорбции полярных компонентов углеводородного загрязнения, снижая количество потенциально образуемых водородных связей. Физически, при взаимодействии двух загрязняющих веществ, будет образовываться эмульсия, которая при высыхании может обуславливать наличие масштабных хлопьевидных структур на поверхности кварцевых зерен.

Выводы к главе 4

- При взаимодействии поверхности кварцевых зерен с водой, за счет процессов адсорбции и хемосорбции, молекулы связываются с кремнеземом. Определяющую роль в данном процессе

играют коллоидные частицы аморфного кремнезема, которые при гидратации способны переходить в формы моно- и поликремниевых кислот.

2. Образованные в процессе растворения гидратированные ионы хлора и натрия по-разному проявляют активность в системе. Ион натрия (Na^+) активно взаимодействует с поверхностью коллоидных частиц аморфного кремнезема, способствуя их сближению и формированию агрегатов. В свою очередь, гидратированный ион хлора (Cl^-) не вступает в химические и физико-химические взаимодействия с твердой фазой, причем, оставаясь в химически активной форме, способен взаимодействовать с составляющими биотической компоненты грунтовой системы.

3. Внесение дизельного топлива в песчаную грунтовую систему инициирует процесс физической адсорбции и хемосорбции полярных молекул на поверхности кремнезема, прочность закрепления которых зависит от их положения и числа водородных связей. В зависимости от концентрации углеводородного загрязнения, образуются моно- и полимолекулярные пленки. Описанные процессы определяют характер поверхности кварцевых зерен.

4. Внесение в песчаную грунтовую систему комбинации дизельного топлива и раствора хлорида натрия ($NaCl$) приводит к инициации химических и физико-химических процессов взаимодействия веществ-загрязнителей с поверхностью кварцевых зерен, наблюдавшихся при одиночном загрязнении. Однако, наличие в растворе гидратированного иона натрия (Na^+) может препятствовать процессу адсорбции полярных компонентов углеводородного загрязнения, снижая количество потенциально образуемых водородных связей. Физически при взаимодействии двух загрязняющих веществ образуется эмульсия, которая при высыхании может обуславливать наличие масштабных хлопьевидных структур на поверхности кварцевых зерен.

Исходя из результатов диссертационного исследования, изложенных в главе 4, сформулировано следующее защищаемое положение:

1. Физико-химические взаимодействия компонентов применяемых загрязняющих веществ (нефтяных углеводородов и хлорида натрия) с поверхностью кварцевых зерен в песчаной грунтовой системе определяются содержанием коллоидных частиц аморфного кремнезема. Особенности протекающих физико-химических процессов и взаимодействий определяют биологическую значимость уровня и состава загрязнения.

Глава 5. Характеристика объектов исследования

Для получения представления об особенностях и принципах взаимодействия компонентов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение» необходимо рассматривать данную структуру как экологическую и исследовать ее, применяя метод экспериментального моделирования, который позволит регулировать степень негативного абиотического воздействия загрязняющих веществ на живые организмы в ходе проведения аппликатного фитотестирования. Одной из основных задач в проводимом исследовании является оценка биологической значимости уровня и состава загрязнителей по реакции используемых тест-растений. Таким образом, для создания моделей природного загрязненного песчаного грунта использовались четыре разновидности песка различные по своему генезису, но преимущественно кварцевые по своему минеральному составу. В соответствии с проведенным анализом эффективности применения высших растений для фитотестирования загрязненных песчаных грунтов, описанным в главе 3.2, а также основываясь на рекомендациях российских и зарубежных нормативных документов были выбраны две тест-культуры: однодольная – сорго сахарное (*Sorghum s.*) и двудольная – горчица белая (*Sinapis a.*). С целью моделирования ситуации загрязнения песчаных грунтов в пределах районов нефтедобычи, в качестве загрязняющих веществ были выбраны: дизельное топливо – как углеводородное загрязнение и раствор хлорида натрия – как солевое загрязнение, имитирующее процесс «техногенного галогенеза».

5.1. Характеристика используемых песчаных грунтов

Для создания моделей природного загрязненного песчаного грунта было отобрано четыре различных песка. В качестве мест отбора были выбраны некоторые крупные месторождения, также для моделирования наиболее реального сценария загрязнения песчаного грунта на территории нефтедобывающих предприятий, был отобран песок на кустовой площадке функционирующего нефтяного месторождения «Усть-Балыкское», расположенного в Западной Сибири, Нефтеюганский район.

Один из используемых в экспериментальных исследованиях песок был отобран на территории Люберецкого горно-обогатительного комбината. Месторождение кварцевых песков является одним из крупнейших в России. Мощность вскрытых пород составляет от 0,3 до 22,6 м, обычно от 5 до 8 м. Полезная толща представлена пластовой залежью мелко-среднезернистых кварцевых песков, содержащих в незначительном количестве полевые шпаты и слюды. Данные пески сформировались в прибрежных зонах древних морей и встречаются в основном в отложениях верхней юры и нижнего мела. Главным образом на месторождении добываются позднеюрские кварцевые пески, глубина отбора от 2 до 2,5 м.

Песчаный грунт представляет собой осадочную несвязанную породу с желтым оттенком. Зерна в основном прозрачные, хорошо отсортированные, форма и характер поверхности свидетельствуют о средней окатанности (рисунок 23) [51].

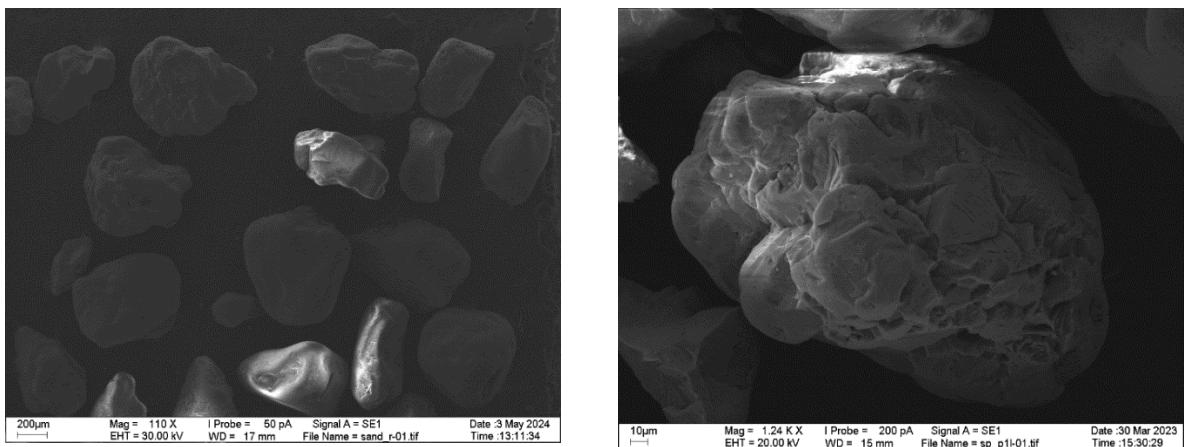


Рисунок 23. Морфологические особенности кварцевых зерен песчаного грунта, месторождение «Люберецкое». РЭМ – изображения, увеличение 110-х (слева) и 1200-х (справа) кратное увеличение

Следующий используемый песок был отобран на территории месторождения «Мураевня», которое расположено в центральной части Рязанской области. На данном месторождении разрабатываются пески, приуроченные к Валдайскому оледенению. Основная масса отложений представлена флювиогляциальными песчаными толщами, в верхней части разреза встречаются аллювиальные позднечетвертичные. Мощность пласта вскрышных пород составляет от 8 до 15 м. Данные пески характеризуются достаточно высокой степенью сортировки ($C_u=2,1$), с преобладанием частиц от 0,25 до 0,5 мм. Основными минералами являются кварц (88 – 95 %) и полевые шпаты (5 – 8 %), редко встречаются примеси акцессорных минералов: турмалин, циркон, магнетит. Песчаный грунт представляет собой несвязанную осадочную горную породу светло-коричневого цвета. Форма и характер поверхности песков свидетельствуют о средней степени окатанности (рисунок 24) [63].

Другой используемый в экспериментальных исследованиях песок был отобран на территории месторождения «Гора Хрустальная», Свердловская область. Разрабатываемые отложения относятся к древним магматическим породам. Сформированы данные отложения в позднеюрском периоде, представлены кварцевыми жилами, посредством дробления которых получают дисперсный несвязанный материал. Мощность вскрышных пород составляет от 10 до 20 м. Кварцевые пески характеризуются высокой степенью сортировки ($C_u=1,4$), с преобладанием частиц размером от 0,1 до 0,5 мм (80 – 85 %). По минеральному составу практически нацело состоят из кварца (95 – 98 %), высокое содержание SiO_2 позволяет относить данные пески к стекольным и формовочным с производственной точки зрения. Песчаные грунты

представляют собой несвязную породу белого, редко серовато-белого цвета. Частицы грунта характеризуются низкой степенью окатанности и угловатой формой (рисунок 25).

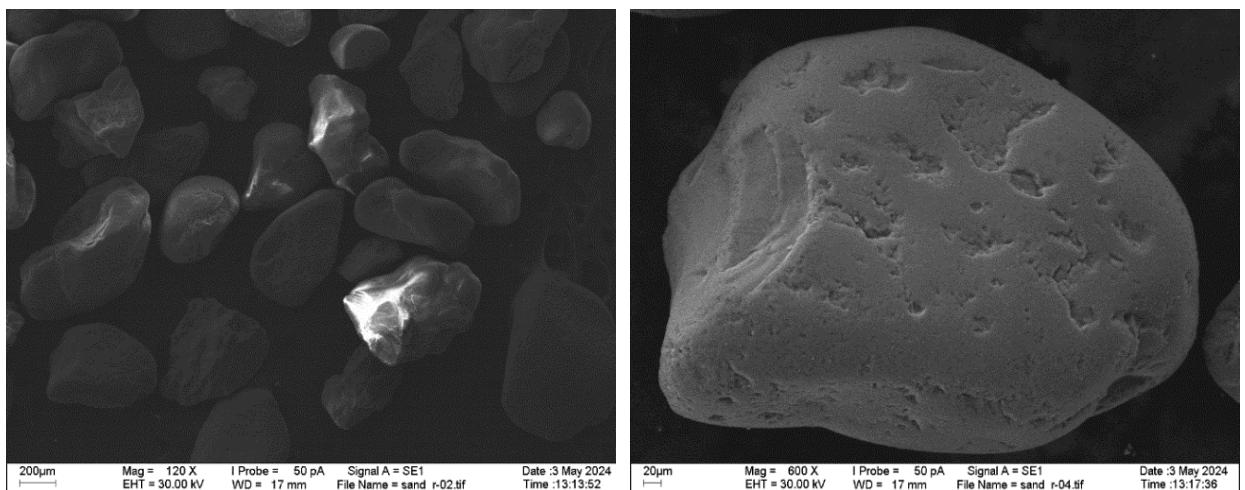


Рисунок 24. Морфологические особенности кварцевых зерен песчаного грунта, месторождение «Мураевня». РЭМ – изображения, увеличение 120-х (слева) и 600-х (справа) кратное увеличение

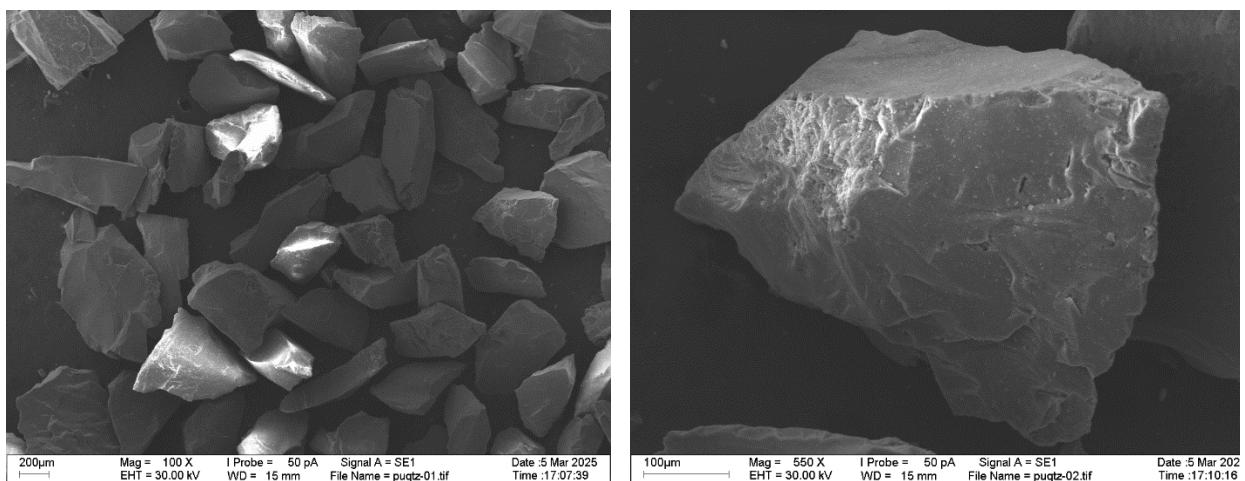


Рисунок 25. Морфологические особенности кварцевых зерен песчаного грунта, месторождение «Гора Хрустальная». РЭМ – изображения, увеличение 100-х (слева) и 550-х (справа) кратное увеличение

Для создания модели загрязненного песчаного грунта наиболее приближенной к реальным условиям в рамках проведения экспериментальных исследований использовался песок, отобранный на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения (Нефтеюганский район) в пределах одной из кустовых площадок, расположенной в пойме р. Обь. Данный песчаный грунт относится к голоценовым современным аллювиальным отложениям, мощность которых составляет от 5 до 12 м. В минеральном составе основным компонентом является кварц (75 – 85 %), встречаются примеси полевых шпатов и плагиоклазов (10 – 15 %). Пески хорошо сортированы, преобладающий размер частиц от 0,1 до 0,25 мм, представляют собой несвязную

осадочную породу желтовато-коричневого цвета, характер формы и поверхности частиц грунта свидетельствует о средней степени окатанности (рисунок 26).

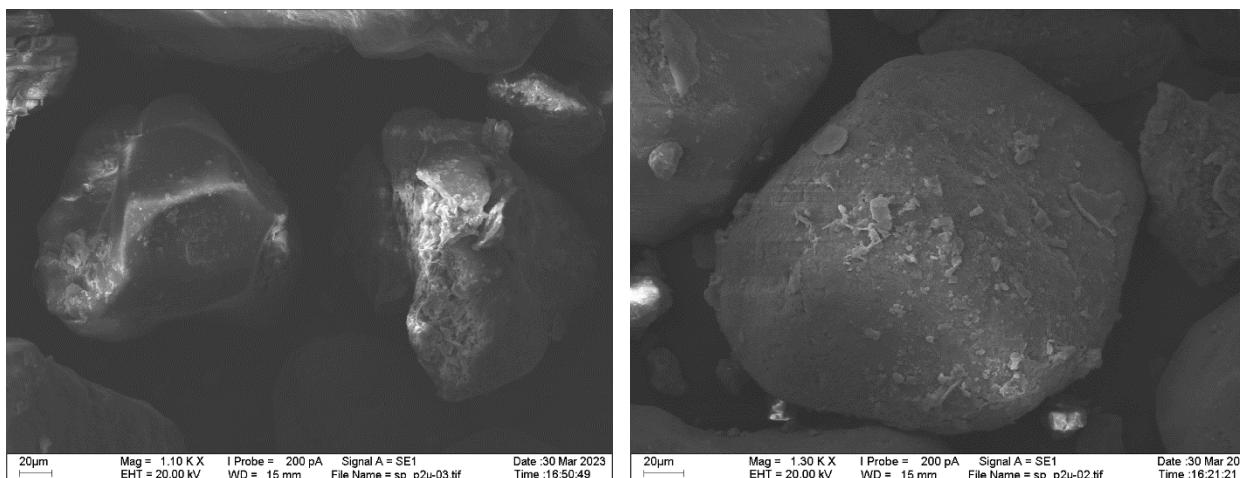


Рисунок 26. Морфологические особенности кварцевых зерен песчаного грунта, «Усть-Балыкское» нефтяное месторождение. РЭМ – изображения, увеличение 1100–х (слева) и 1300–х (справа) кратное увеличение

В ходе проведения экспериментальных исследований были определены некоторые показатели физических свойств, влажности, гранулометрического, химического и минерального состава используемых песчаных грунтов (таблица 2). Все определения проводились по стандартным методикам, применяемым в лабораторной практике грунтоведения [43] на кафедре инженерной и экологической геологии в лаборатории «Грунтоведения и технической мелиорации грунтов». Также расчетным методом были получены значения коэффициента пористости и коэффициента неоднородности используемых песков. Название песчаного грунта давалось в соответствии с классификацией по ГОСТ 25100–2020 «Грунты. Классификация».

Химический состав используемых песчаных грунтов определялся с применением рентгенофлюоресцентного энергодисперсионного переносного анализатора (РЛП 3) на кафедре геохимии, геологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Полученные результаты (таблица 3) свидетельствуют о преобладании в составе всех исследуемых песков диоксида кремния – SiO_2 , и относительно высоком содержании полуторного оксида алюминия – Al_2O_3 , за исключением песчаного грунта, отобранного на территории месторождения «Гора Хрустальная», в котором содержание SiO_2 составило 98,3 %. Остальные определенные химические соединения имеют подчиненное значение.

Минеральный состав исследуемых песчаных грунтов определялся рентгенодифракционным количественным анализом при помощи рентгеновского дифрактометра Ultima-IV, количественный пересчет осуществлялся методом полнопрофильной обработки рентгеновских картин по методу Ритвельда (таблица 3). Все стадии определения минерального

состава проходили в лаборатории «Грунтоведения и технической мелиорации грунтов», кафедры инженерной и экологической геологии.

По результатам проведенных определений минерального состава песчаных грунтов можно отметить, что во всех пробах содержание кварца (SiO_2) превышает 96 вес. %, за исключением песка, отобранного на нефтяном месторождении (содержание кварца – 84,7 вес. %), в котором было определено также относительно высокое содержание полевых шпатов (9,1 вес. %) и глинистых минералов (6,0 вес. %). Также в исследуемых грунтах присутствуют небольшие примеси слюдистых минералов (от 1,0 до 2,2 вес. %). Таким образом, исследуемые песчаные грунты характеризуются достаточно однородным минеральным составом и практически нацело состоят из кварца.

Для получения представления о количестве потенциально доступной влаги необходимой для роста и развития высших растений в песчаной грунтовой системе была проведена серия опытов по определению водного потенциала (активности воды) в исследуемых песках. Водный потенциал характеризует энергетический статус воды, описывает насколько вода связана структурно и химически с компонентами грунтовой системы. Экспериментальная часть исследования осуществлялась в лаборатории центра добычи углеводородов СколТеха (Center for Petroleum Science and Engineering, SkolTech) с использованием прибора WP4C Dewpoint PotentialMeter⁷.

Определяемый показатель отражают потенциальную энергию воды, причем полный водный потенциал состоит из суммы четырех: гравитационного, матричного, осмотического и давления воды. Гравитационный зависит от расположения воды в гравитационном поле, матричный от адсорбционных сил, связывающих воду. Осмотический потенциал изменяется в зависимости от концентрации растворенных в воде веществ, преимущественно солей. Потенциал давления воды зависит от гидростатического или пневматического давления в воде [72].

По результатам определения давления влаги (A_w) в исследуемых песчаных грунтах (рисунок 27) было определено, что при увеличении влажности до 1,5 %, значения водного потенциала находятся в диапазоне 0,90 до 0,99 д. ед. Таким образом, при незначительном увеличении влажности исследуемых песков, практически вся влага будет находиться в энергетически свободном состоянии, то есть не связана структурно или химически с твердой компонентой грунтовой системы. С учетом определенных значений показателя активности воды, потенциальная доступность влаги для роста и развития высших растений не снижается в исследуемой грунтовой системе при увеличении влажности.

⁷ Инструментальное определение активности воды было проведено старшим научным сотрудником Б.А. Бухановым на базе лаборатории центра добычи углеводородов СколТеха

Таблица 2

Показатели состава и свойств используемых песчаных грунтов

Место отбора	Индекс	Глубина отбора, м	Наименование грунта по ГОСТ 25100–2020	Влажность, %		Плотность, г/см ³		Коэффициент пористости, д. ед.		Гранулометрический состав (%), размер фракции, мм					Коэффициент неоднородности $d_{60}-d_{10}$	Содержание органики I_r , д.е.д.	Содержание аморфного кремнезема, масс. %	
				Гигроскопическая W_g	Макс. молек. вл. W_{muc}	Твердой компоненты ρ_s	Рыхлое сложение ρ_{min}	Плотное сложение ρ_{max}	Рыхлое сложение e_{min}	Плотное сложение e_{max}	2,0–1,0	1,0–0,5	0,5–0,25	0,25–0,1	<0,1			
Территория Люберецкого горно-обогатительного комбината, г. Москва	mK_{1-2}	1,5 – 2,0	Песок средней крупности однородный	0	2	2,65	1,36	1,77	0,812	0,504	0	0	64	36	0	2,5	0,001	0,44
Месторождение «Мураевня», Рязанская обл.	aQ_{II}	7,0 – 7,5	Песок крупный однородный	0	1	2,66	1,52	1,92	0,721	0,486	0	54	43	1	2	2,7	0,003	0,82
Месторождение «Гора Хрустальная», Свердловская обл.	J_{2-3}	1,0 – 1,5	Песок средней крупности однородный	0	3	2,68	1,38	1,80	0,837	0,520	0	8	91	1	0	1,4	0,001	0,29
Территория «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, Нефтеюганский р-он	aQ_{IV}	0,5 – 1,0	Песок мелкий однородный	0	3	2,66	1,33	1,76	0,873	0,588	0	1	29	60	10	2,3	0,012	1,84

Таблица 3

Химический и минеральный состав используемых песчаных грунтов

Место отбора	Индекс	Глубина отбора, м	Наименование грунта по ГОСТ 25100–2020	Удельная поверхность $S_{yд}$, м ² /г	Химический состав, содержание, %									Минеральный состав, содержание, %			
					SiO_2	TiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	CaO	MgO	K_2O	Na_2O	P_2O_5	Кварц	Полевые шпаты	Слюдистые минералы	Глинистые минералы
Территория Люберецкого горно-обогатительного комбината, г. Москва	mK_{1-2}	1,5 – 2,0	Песок средней крупности однородный	0,3	73,0	0,4	8,3	4,7	1,2	4,7	3,3	4,1	0,4	98,6	–	1,1	0,3
Месторождение «Мураевня», Рязанская обл.	afQ_{II}	7,0 – 7,5	Песок крупный однородный	0,3	78,4	0,1	5,1	5,9	1,9	2,7	3,0	2,8	0,1	96,1	2,4	1,0	0,5
Месторождение «Гора Хрустальная», Свердловская обл.	J_{2-3}	1,0 – 1,5	Песок средней крупности однородный	0,1	98,3	н.п.о.	1,1	0,4	н.п.о.	н.п.о.	н.п.о.	н.п.о.	н.п.о.	99,6	0,4	–	–
Территория «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, Нефтеюганский р-он	aQ_{IV}	0,5 – 1,0	Песок мелкий однородный	0,4	83,5	0,2	8,7	1,7	0,9	2,8	1,2	0,7	0,3	84,7	9,1	2,2	6,0

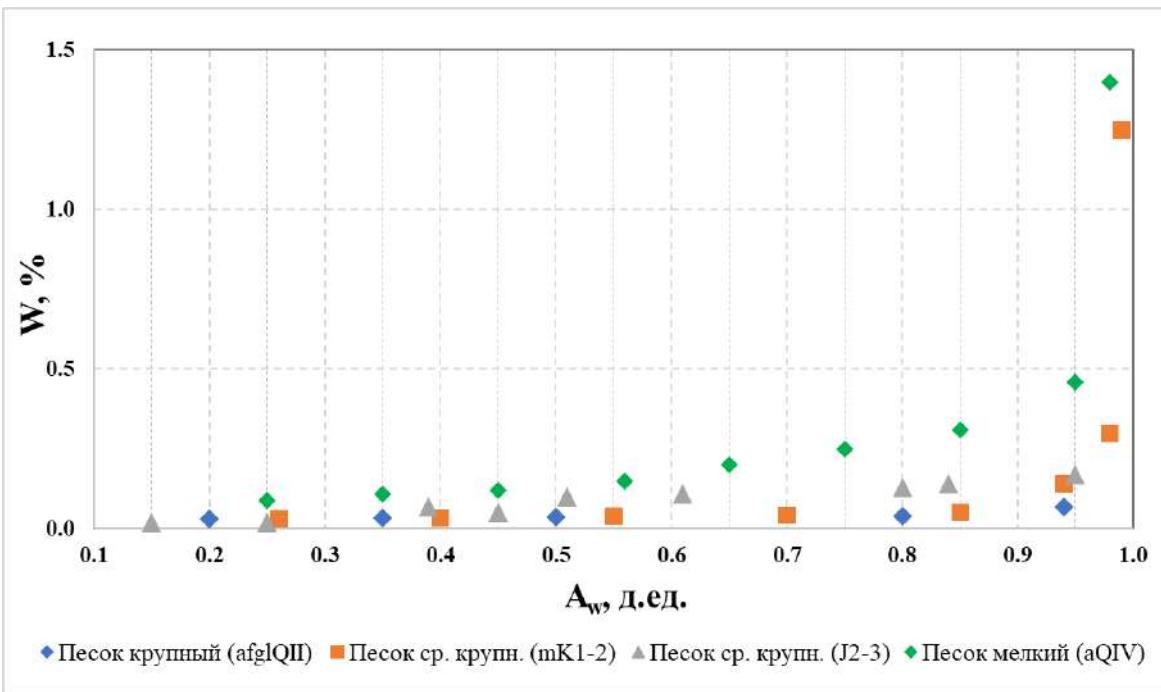


Рисунок 27. Зависимость влажности (W) от изменения давления влаги (A_w) в исследуемых песчаных грунтах

Одним из ключевых показателей с точки зрения обоснования возможности протекания процессов взаимодействия компонентов загрязняющих веществ в песчаной грунтовой системе с поверхностью кварцевых зерен является содержание аморфного (подвижного) кремнезема, который при условии воздушно-сухого состояния грунта находится в системе в виде фракции коллоидного размера. Определение содержания данного соединения проводилось по методу К.К. Гедройца [11], подробно методика описана в главе 6.2, в данном разделе представлены результаты в таблице 2.

Исходя из полученных результатов определения содержания аморфного кремнезема, можно отметить, что наибольшее значение (1,84 масс. %) соответствует песку, отобранному на территории «Усть-Балыкского» месторождения, что, в свою очередь, может быть связано со значительным (по сравнению с остальными исследуемыми песчаными грунтами) содержанием глинистых минералов. В других пробах содержание находится в диапазоне от 0,29 до 0,82 масс. %, что соответствует данным полученным различными исследователями [107, 120, 152]. По результатам определения подвижной кремнекислоты в исходных песчаных грунтах можно судить о возможности взаимодействия веществ-загрязнителей с поверхностью кварцевых зерен. Исходя из представлений о форме нахождения аморфного кремнезема в воздушно-сухом грунте, есть основание полагать, что имеющееся в исследуемых песчаных грунтах содержание подвижной кремнекислоты может оказывать заметное влияние на возможность и интенсивность протекания химических и физико-химических взаимодействий в

системе, и также определять физико-химическую активность используемых веществ-загрязнителей [19].

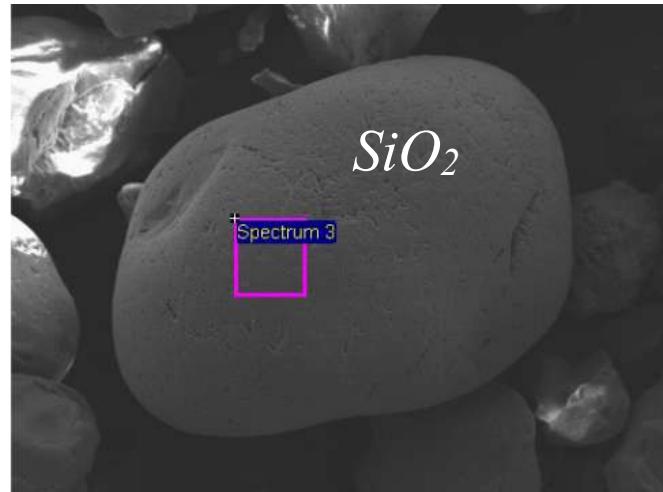
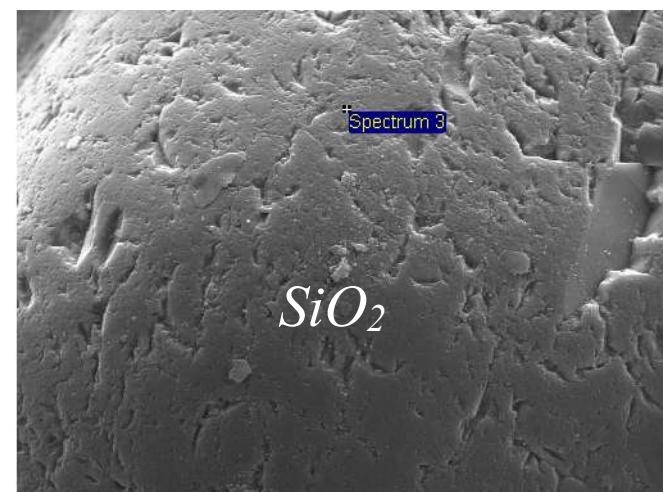
Одним из важнейших показателей, отражающих способность и интенсивность протекания физических и физико-химических процессов в песчаной грунтовой системе, является удельная поверхность. Данная величина является усредненной характеристикой пористости (дисперсности) соответствующих пористых или тонкоизмельченных (диспергированных) твердых тел. Очевидно, что для тел с развитой пористостью основная величина поверхности приходится на поверхность пор, соответственно удельная поверхность будет прямо пропорциональна их диаметру или размеру частиц, составляющих твердое тело определенной массы [44]. Используемые в рамках настоящего экспериментального исследования песчаные грунты однородные по своему гранулометрическому составу, исходя из среднего размера частиц ($d_{50}=0,17 - 0,52$ мм) будут обладать низкими значениями удельных поверхностей, по сравнению с глинистыми грунтами. Для оценки величины данного показателя был проведен инструментальный анализ⁸ с использованием прибора СОРБИ-MS (см. таблицу 2). Метод определения основан на тепловой десорбции азота. В ходе определения образец охлаждается до температуры минус 196°C для инициации адсорбции и в последующем нагревается до температуры десорбции, измерение удельной поверхности проводится по четырех-точечному методу Брунауэра-Эметта-Теллера (БЭТ). Исходя из полученных значений удельной поверхности используемых песчаных грунтов, можно отметить, что данный показатель зависит от их гранулометрического состава и степени окатанности зерен, которая регулирует плотность упаковки частиц грунта в определенном объеме. Так, наибольшим значением обладает мелкий однородный песок, отобранный на территории «Усть-Балыкского» месторождения ($0,4\text{ m}^2/\text{г}$), наименьшим – песок средней крупности однородный с угловатыми, практически неокатанными зернами, отобранный на территории месторождения «Гора Хрустальная» ($0,1\text{ m}^2/\text{г}$).

На сегодняшний день в области исследования поверхности песчаных частиц в связи с различными задачами ее модификации достаточно часто в качестве одного из факторов взаимодействия растворов и химических соединений с поверхностью называют различные аутигенные пленки. Данные образования формируются за счет физической и физико-химической сорбции. Для установления факта наличия или отсутствия подобных пленок в исследуемых песчаных грунтах в рамках экспериментальных исследований был проведен энергодисперсионный рентгеновский спектральный анализ с использованием растрового электронного микроскопа (таблица 4).

⁸ Инструментальное определение удельной поверхности было проведено ведущим научным сотрудником Е.М. Чувилиным, старшим научным сотрудником Б.А. Бухановым и инженером Н.С. Соколовой на базе лаборатории центра добычи углеводородов СколТеха

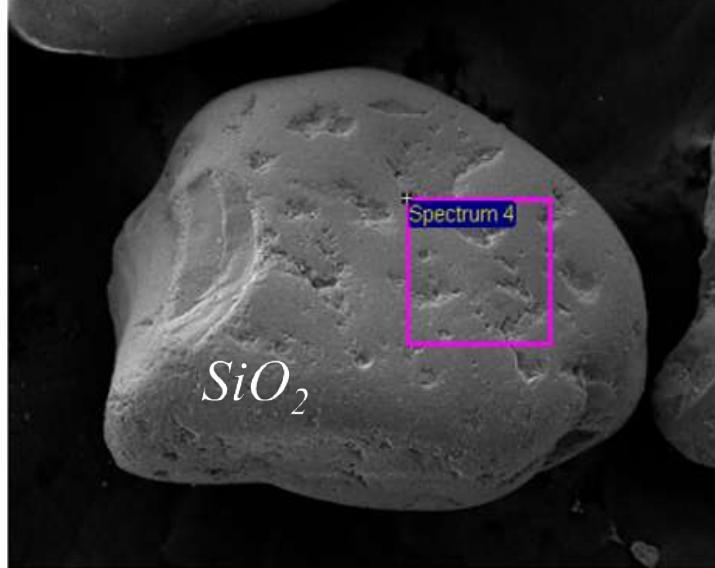
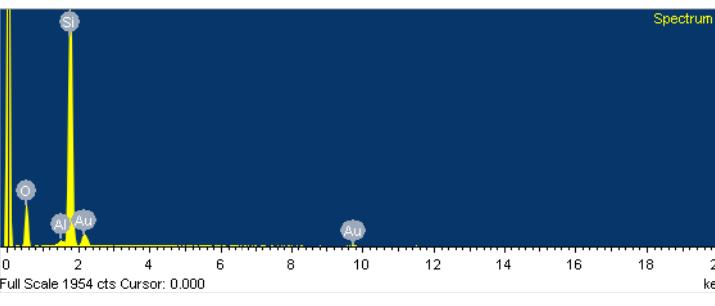
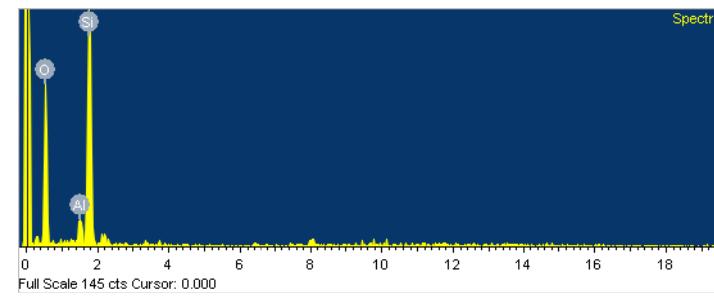
Таблица 4

Энергодисперсионный рентгеновский спектральный анализ с микрозондовыми исследованиями поверхности зерен кварца⁹

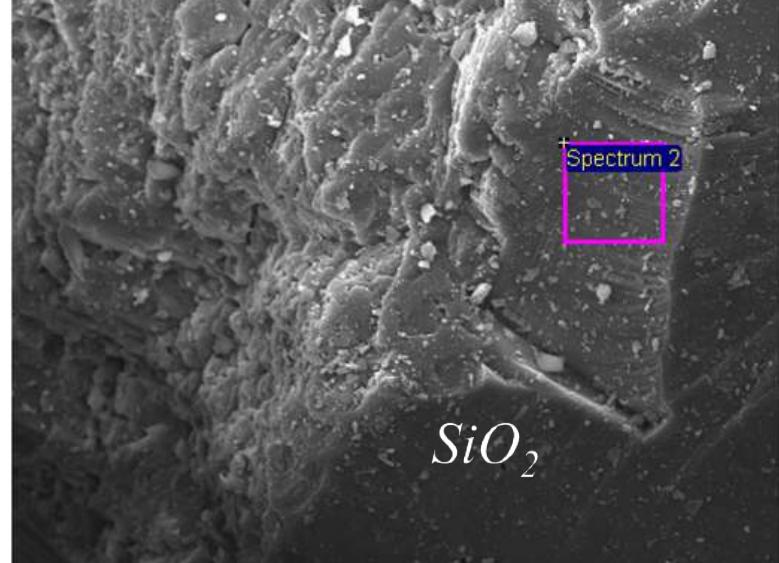
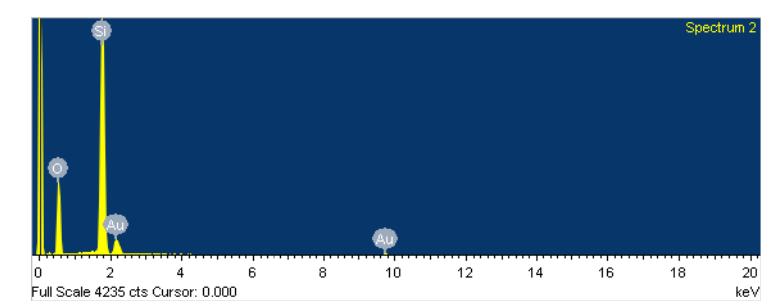
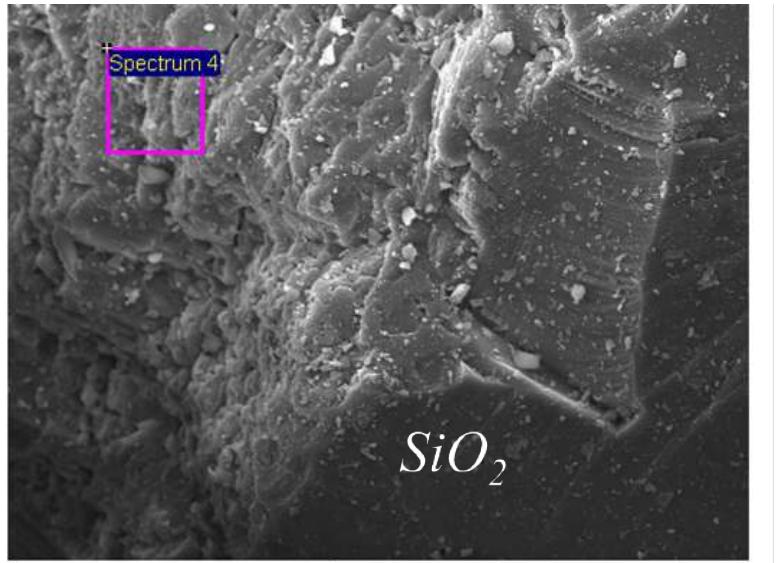
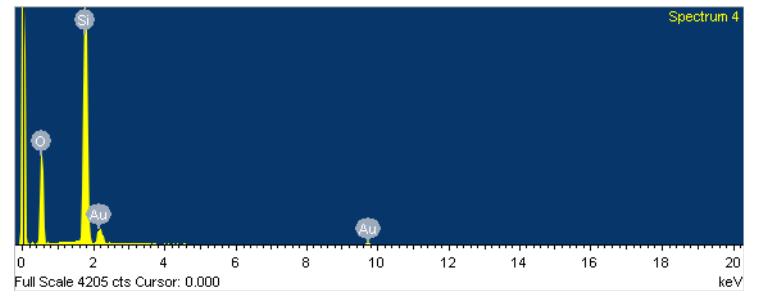
Место отбора песчаного грунта	РЭМ-изображения и спектры химических элементов	
Территория Люберецкого горно-обогатительного комбината, г. Москва	 	<p>SiO₂</p> <p>Spectrum 3</p> <p>300μm Electron Image 1</p> <p>60μm Electron Image 1</p> <p>Si O Al Au</p> <p>Full Scale 4014 cts Cursor: 0.000 Full Scale 5151 cts Cursor: 0.000</p> <p>keV keV</p>

⁹ Электронно-микроскопические и микрозондовые исследования выполнены М.С. Черновым в лаборатории грунтоведения и технической мелиорации грунтов, кафедры инженерной и экологической геологии, геологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова на оборудовании, приобретенном за счет средств Программы развития Московского университета

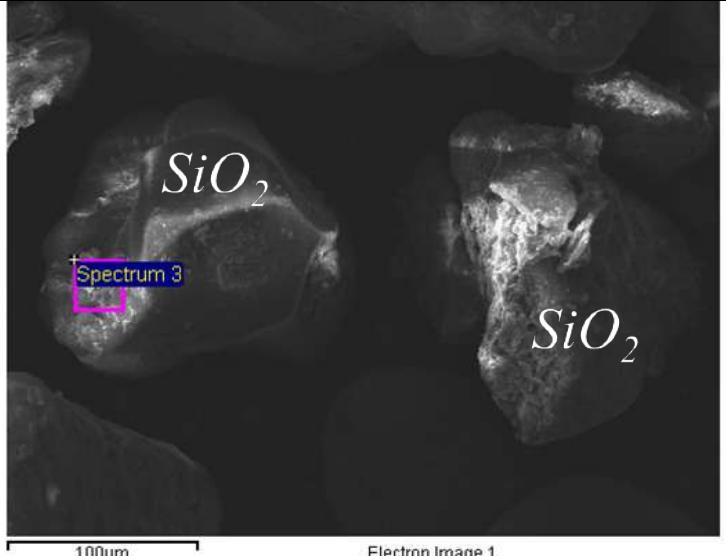
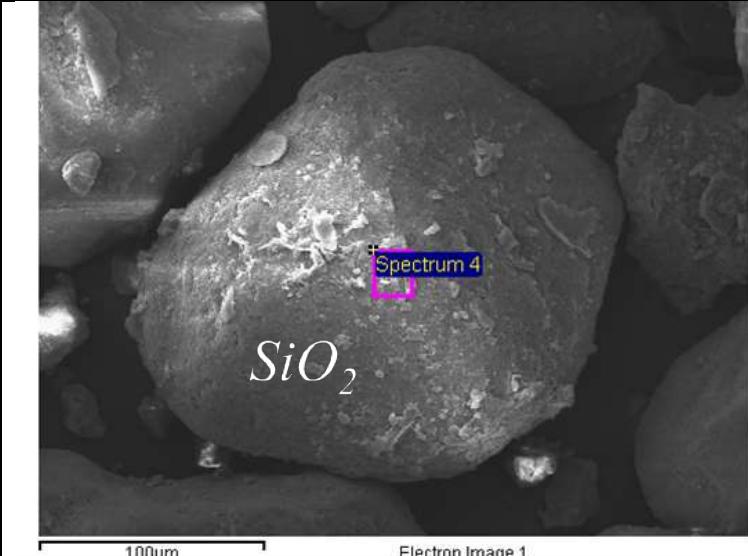
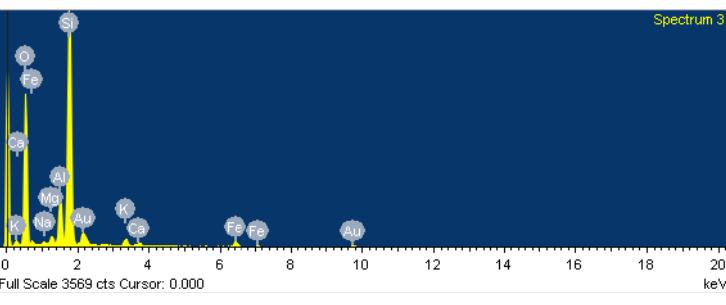
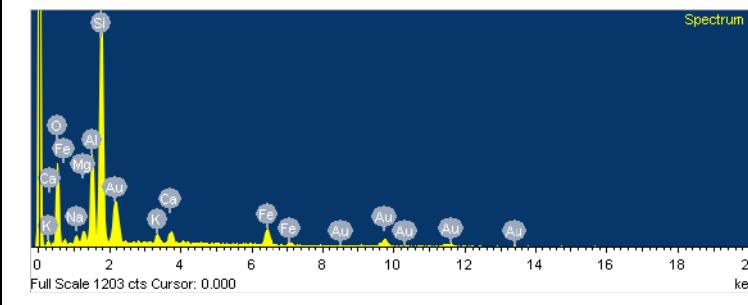
Продолжение таблицы 4

Место отбора песчаного грунта	РЭМ-изображения и спектры химических элементов		
<p>Месторождение «Мураевня», Рязанская обл.</p>  <p>Electron Image 1</p> <p>300µm</p>  <p>Electron Image 1</p> <p>400µm</p>	<p>Spectrum 4</p>  <p>Full Scale 1954 cts Cursor: 0.000</p>	<p>Spectrum 3</p>  <p>Full Scale 145 cts Cursor: 0.000</p>	

Продолжение таблицы 4

Место отбора песчаного грунта	РЭМ-изображения и спектры химических элементов																	
Месторождение «Гора Хрустальная», Свердловская обл.	 <p data-bbox="871 759 990 822">SiO_2</p> <p data-bbox="601 909 653 930">60μm</p> <p data-bbox="833 909 983 930">Electron Image 1</p>  <table border="1"> <caption data-bbox="451 1208 1230 1244">Spectrum 2</caption> <thead> <tr> <th>Element</th> <th>Approx. Peak Position (keV)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Si</td> <td>~1.8</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td>Au</td> <td>~10.5</td> </tr> </tbody> </table>	Element	Approx. Peak Position (keV)	Si	~1.8	O	~0.5	Au	~10.5	 <p data-bbox="1693 759 1812 822">SiO_2</p> <p data-bbox="1432 909 1484 930">60μm</p> <p data-bbox="1664 909 1814 930">Electron Image 1</p>  <table border="1"> <caption data-bbox="1304 954 2084 1244">Spectrum 4</caption> <thead> <tr> <th>Element</th> <th>Approx. Peak Position (keV)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Si</td> <td>~1.8</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>~0.5</td> </tr> <tr> <td>Au</td> <td>~10.5</td> </tr> </tbody> </table>	Element	Approx. Peak Position (keV)	Si	~1.8	O	~0.5	Au	~10.5
Element	Approx. Peak Position (keV)																	
Si	~1.8																	
O	~0.5																	
Au	~10.5																	
Element	Approx. Peak Position (keV)																	
Si	~1.8																	
O	~0.5																	
Au	~10.5																	

Продолжение таблицы 4

Место отбора песчаного грунта	РЭМ-изображения и спектры химических элементов		
<p>Территория «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, Нефтеюганский район</p>  <p>Electron Image 1</p>  <p>Electron Image 1</p>	 <p>Spectrum 3</p> <p>Full Scale 3569 cts Cursor: 0.000</p>	 <p>Spectrum 4</p> <p>Full Scale 1203 cts Cursor: 0.000</p>	

В результате анализа полученных РЭМ-изображений и спектров химических элементов, можно сделать вывод об отсутствии каких-либо аутигенных пленок на поверхности песчаных зерен для проб грунта, отобранных: на территории Люберецкого горно-обогатительного комбината; на территории месторождений «Мураевня» и «Гора Хрустальная», так как в полученных спектрах присутствуют только кремний (Si), алюминий (Al) и кислород (O). Возникающий пик золота (Au) связан с особенностями пробоподготовки, при которой происходит напыление золотой пыли на поверхность исследуемых проб. Песчаный грунт, отобранный на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, напротив, характеризуется большим количеством химических элементов в полученных спектрах. Исходя из этого можно сделать вывод, что в данном песке на поверхности кварцевых зерен присутствуют оксидные (железистые) и карбонатные аутигенные пленки.

С целью определения возможного формирования аморфных оболочек кремнезема на поверхности кристаллов кварца в песке, отобранном на территории Люберецкого горно-обогатительного комбината, было проведено исследование краевых зон кристаллов с использованием растрового электронного микроскопа с энергодисперсионным спектрометром¹⁰. По результатам изучения электронно-микроскопических изображений кристаллов, полученных в отраженных электронах, можно сделать вывод об однородности химического состава зерен кварца (рисунок 28). Краевые участки кристаллов не выделяются на фоне общего объема, что может свидетельствовать об отсутствии аморфных соединений кремнезема, непосредственно включенных в структуру. Однородность химического состава также подтверждается результатами построения линейных профилей по кристаллам кварца (рисунок 29). В пределах объема кристаллов исследуемого песчаного грунта было определено, что их химический состав нацело состоит из SiO_2 .

Также по результатам энергодисперсионного анализа химического состава была построена карта распределения элементов на поверхности кристаллов кварца в исследуемом песчаном грунте (рисунок 30). Анализ полученного распределения позволяет сделать вывод о том, что краевые участки кристаллов, а также частицы кремнезема коллоидной размерности характеризуются повышенным содержанием кислорода. Данное обстоятельство может быть связано с возможными дефектами поверхности кварцевых зерен, а также соотносится с описанными в главе 4.1 теоретическими представлениями о наличии потенциально химически активных силоксановых групп на поверхности кремнезема.

¹⁰ Электронно-микроскопические и энергодисперсионные исследования были проведены старшим научным сотрудником В.В. Крупской в лаборатории Научного центра «Инженерные барьеры» ИГЕМ РАН

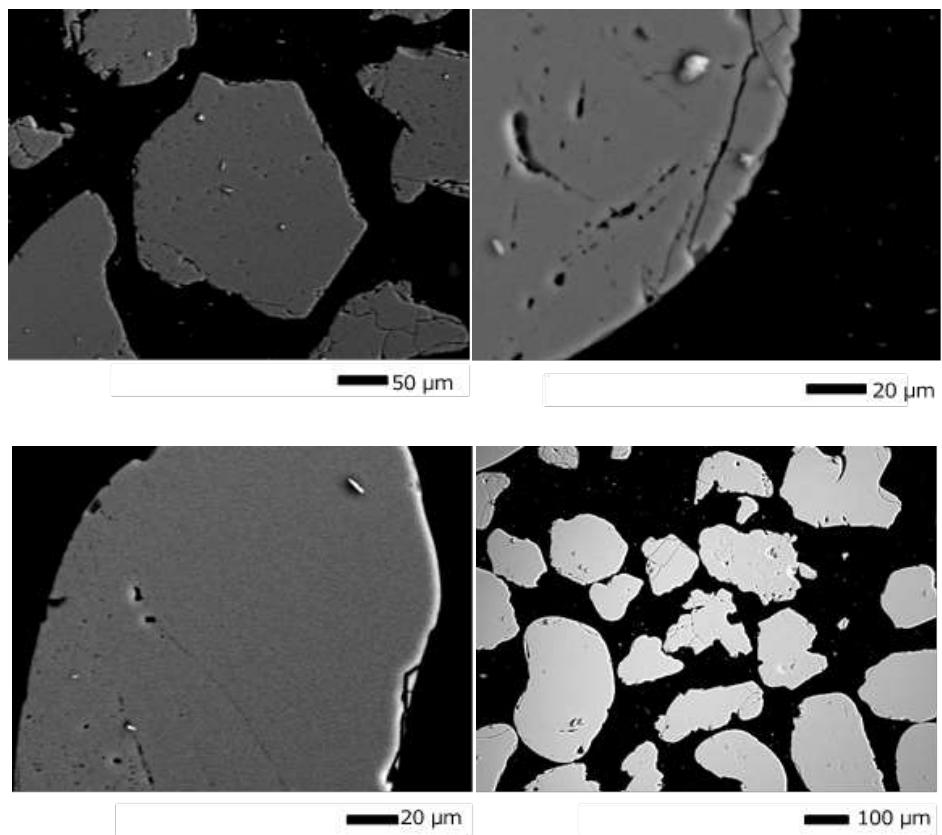


Рисунок 28. Электронно-микроскопические изображения кристаллов кварца в исследуемом песчаном грунте (отраженные электроны)

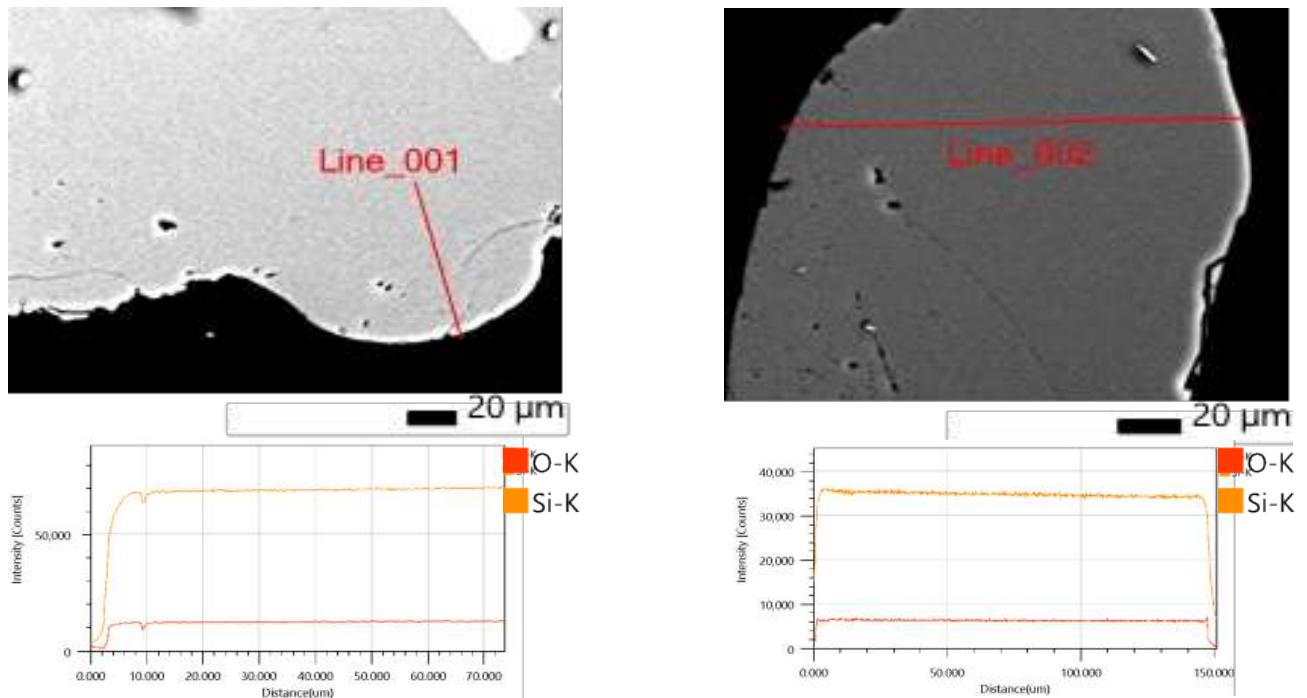


Рисунок 29. Линейные профили химического состава по кристаллам кварца в исследуемом песчаном грунте

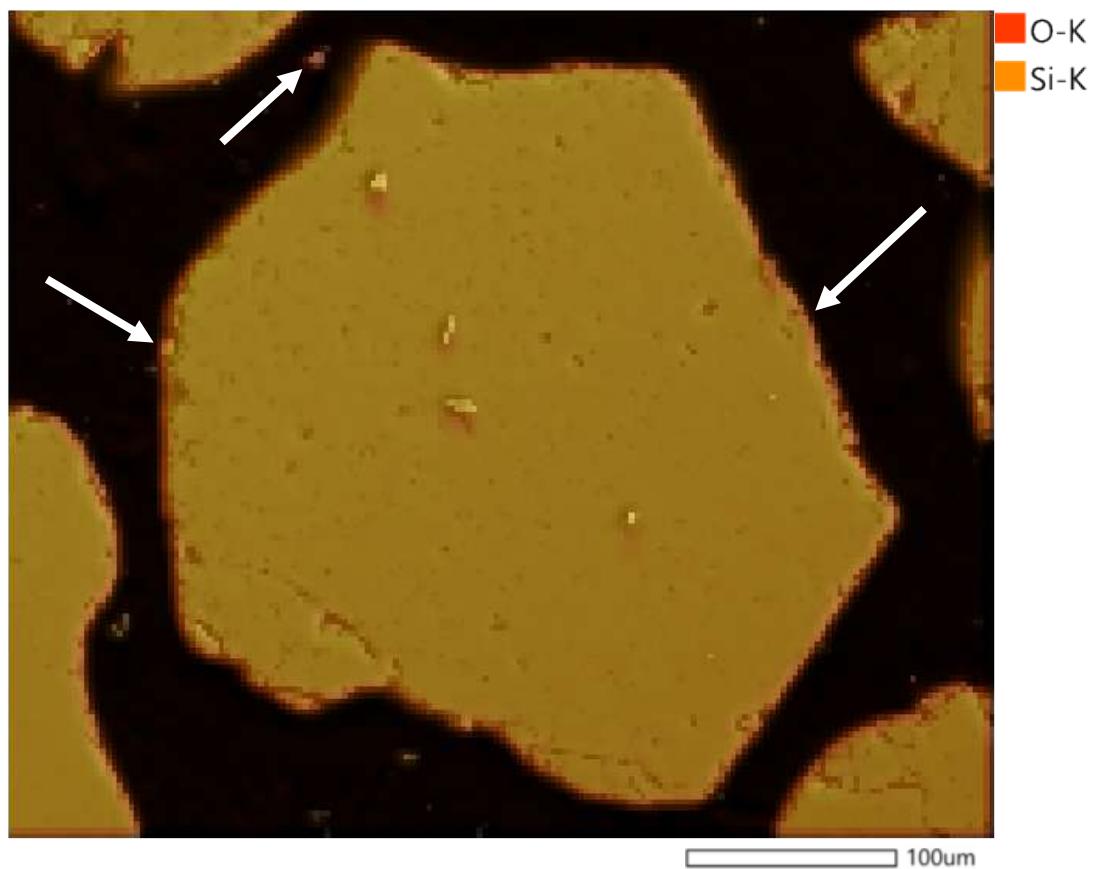


Рисунок 30. Карта распределения химических элементов на поверхности кристаллов кварца в исследуемом песчаном грунте

Важной с точки зрения характеристики песчаной грунтовой системы является группа биотических свойств. В рамках данного экспериментального исследования в исходных чистых воздушно-сухих песках проводилась количественная оценка общей численности микроорганизмов (ОЧМ) с определением водородного показателя (pH), также определялась величина обменного аммония (NH_4) и активность некоторых ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы (таблица 5). Стоит отметить, что ферментативная активность характеризует биокатализитические свойства грунтовой системы, которые заключаются в способности ускорять процессы превращения более сложных веществ (в том числе поллютантов) в более простые. От присутствия ферментов зависят все биохимические преобразования, происходящие в динамичной многокомпонентной грунтовой системе. Деятельность энзимов играет основополагающую роль в проявлении химических и ряда физико-химических свойств. Именно они опосредуют многочисленные химические реакции, происходящие между компонентами грунта, в том числе обеспечивая круговорот химических элементов, трансформацию и минерализацию органических веществ, разложение и деградацию потенциально опасных загрязнителей [18].

Таблица 5

Показатели биотических свойств и pH водной вытяжки используемых песчаных грунтов

Место отбора	Индекс	Глубина отбора, м	Наименование грунта по ГОСТ 25100-2020	Определяемый показатель					
				pH	ОЧМ*, $n \times 10^7$ кл/кг сух. грунта	Обменный аммоний $[NH_4]$, мг/кг грунта	Уреазная активность, $[NH_4]$, мг/10г грунта /сут	Дегидрогеназная активность, мг ТФФ/10г грунта /сут	Пероксидазная активность, мг Хиона/1г грунта /35мин
Территория Люберецкого горно-обогатительного комбината, г. Москва	mK_{1-2}	1,5 – 2,0	Песок средней крупности однородный	$5,58 \pm 0,01$	0,64	$45,47 \pm 0,74$	н.п.о.	н.п.о.	н.п.о.
Месторождение «Мураевня», Рязанская обл.	$a\mathcal{f}Q_{II}$	7,0 – 7,5	Песок крупный однородный	$6,01 \pm 0,01$	0,06	$31,12 \pm 1,33$	н.п.о.	н.п.о.	н.п.о.
Месторождение «Гора Хрустальная», Свердловская обл.	J_{2-3}	1,0 – 1,5	Песок средней крупности однородный	$5,55 \pm 0,01$	0,07	$29,84 \pm 1,01$	н.п.о.	$0,63 \pm 0,21$	н.п.о.
Территория «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, Нефтеюганский р-он	aQ_{IV}	0,5 – 1,0	Песок мелкий однородный	$5,31 \pm 0,01$	4,42	$93,20 \pm 3,55$	$0,88 \pm 0,14$	$1,13 \pm 0,33$	$4,50 \pm 0,49$

*ОЧМ – общая численность микроорганизмов

Данный набор определяемых ферментативных активностей был выбран на основе анализа исследований российских и зарубежных авторов [58, 97, 108, 126], в которых оценивались изменения показателей активности основных групп ферментов при углеводородном и солевом загрязнениях различных грунтовых систем.

Исходя их полученных результатов определения химических и биотических свойств исследуемых песчаных грунтов, можно сделать вывод, что водородный показатель (*pH*), определенный в растворах водных вытяжек, находится в слабокислой области для всех проб песков (*pH*=5,31 – 6,01). Исходные воздушно-сухие пробы грунтов, отобранных на территориях месторождений «Мураевня» и «Гора Хрустальная», характеризуются практически полным отсутствием активных колоний микроорганизмов. В то же время для песков с территорий Люберецкого горно-обогатительного комбината и «Усть-Балыкского» месторождения данный показатель на порядок выше (причем наибольшее значение $OЧM=1,42\times10^7$ кл/кг сух. грунта соответствует последнему). По результатам определения активности ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы, было выявлено, что для чистых песков с территорий месторождений «Люберецкого» и «Мураевня» не характерны значимые показатели биокаталитических свойств. Наибольшие значения ферментативных активностей отмечаются для пробы песка с территории нефтяного месторождения, также активность дегидрогеназы была определена в пробе с территории месторождения «Гора Хрустальная», что может объясняться наличием в песке примеси оксида железа.

Таким образом, в экспериментальных исследованиях использовались четыре различных вида песчаных грунтов, отобранных: 1 – на территории Люберецкого горно-обогатительного комбината; 2 – на территории месторождения «Мураевня»; 3 – на территории месторождения «Гора Хрустальная»; 4 – на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения. Все исследуемые пески характеризуются однородностью гранулометрического и минерального состава, преобладающим минералом является кварц (SiO_2), химический состав, определенный по содержанию основных оксидов, соответствует минеральному. Наличие аутогенных пленок на поверхности кварцевых частиц было подтверждено только для пробы песчаного грунта с «Усть-Балыкского» месторождения. Также было определено содержание аморфного кремнезема, для исследуемых песков диапазон данного показателя составил от 0,29 до 1,84 масс. %. По результатам инструментального определения удельной поверхности песчаный грунтов были получены значения в диапазоне от 0,1 до 0,4 m^2/g , величина показателя определяется гранулометрическим составом и степенью окатанности зерен. Исследуемые песчаные грунты характеризуются слабокислой средой раствора водной вытяжки, также определение активностей некоторых ферментов показало,

что для исходных чистых песков данные показатели не характерны, за исключением грунта с нефтяного месторождения.

5.2. Характеристика используемых тест-культур

Анализ эффективности применения высших растений для фитотестирования загрязненных песчаных грунтов, проведенный в главе 3.2, специфика используемых в экспериментальных исследованиях веществ-загрязнителей, а также рекомендации российских и зарубежных нормативных документов по проведению планшетного фитотестирования определили использование в качестве тест-культур двух видов высших растений: двудольного – горчица белая (*Sinapis a.*) и однодольного – сорго сахарное (*Sorghum s.*).

Характеристика тест-культуры горчицы белой (*Sinapis a.*). Горчица белая (*Sinapis a.*) – вид однолетних травянистых растений рода горчица (*Sinapis*) семейства капустные (*Brassicaceae*) (рисунок 31). Морфологически растение характеризуется прямостоячими стеблями, очередными, ланцетными листьями и ярко-желтыми цветками, собранными в кистевидные соцветия.

Двудольное однолетнее растение средней высотой от 25 до 100 см. Стебли жестковолосистые, прямостоячие, вверху разветвленные. Нижние листья лировидно-перистонадрезные, верхняя лопасть широкоовальная, состоящая из трех долей, боковых лопастей (от 2 до 3); верхние листья на более коротких черешках, с меньшим числом лопастей и с более острыми их очертаниями; реже нижние листья рассечены на узкие доли [3].

Цветки бледно-желтые или белые, собраны в многоцветковое (от 25 до 100 цветков) кистевидное соцветие; ноготок в 1,5 раза короче отгиба. Цветоножки при плоде горизонтально отклоненные, реже восходящие, от 0,8 до 1,3 см длиной. Растение – насекомо- опыляемое. Плод – стручок, заполненный мелкими круглыми семенами светло-желтого цвета. Стручки прямые или изогнутые, грубые, бугорчатые, обычно покрыты жесткими оттопыренными волосками от 2 до 4 см длиной, с плоским мечевидным носиком, равным по длине створкам или длиннее их, реже несколько короче; иногда стручки с очень короткими створками [3].

Горчица имеет глубокую корневую систему. Семена прорастают при температуре от минус 3°C. Горчица белая – сидератная культура. Корни этого растения способны выделять в почву органические кислоты (глюказинолаты), которые в свою очередь переводят ряд недоступных растениям микроэлементов из субстрата в усваиваемую форму. Также эти кислоты предотвращают накопление в почве некоторых опасных для других растений болезней [22]. Распространена горчица белая в Южной Европе, в Западной Азии, на севере Пакистана, в Северной Африке. Как сорное растение распространено по всей территории России, кроме

северных районов, растет на полях, вдоль дорог. Горчица белая относится к умеренно солеустойчивым видам [26].



Рисунок 31. Ботаническая иллюстрация горчицы белой (*Sinapis alba*) [26, 141]

Данная культура отличается достаточно быстрым прорастанием (от 1 до 3 дней) и высокими показателями всхожести. На ювенильной стадии развития (от всходов до 3 – 4 листьев) при благоприятных условиях способна демонстрировать интенсивный рост, так скорость роста корня может достигать от 1,5 до 2 мм/ч. Формирование и активное удлинение гипокотиля происходит в первые 48 часов. В целом процесс прорастания семян горчицы белой включает в себя несколько фаз: инициация прорастания – первые 12 – 14 часов, в данный период происходит активное впитывание воды семенем (набухание на 30 – 40 %), также повышается активность внутриклеточных ферментов протеазы и амилазы, которые расщепляют белки и крахмал, соответственно, они же способствуют мобилизации питательных веществ находящихся в семени,

в этот период происходит удлинение зачаточного корня – радикулы на 0,5 – 1 мм; на следующем этапе (12 – 36 ч) происходит удлинение корня и появление корневых волосков, также начинает вытягиваться гипокотиль, поднимая семядоли над поверхностью; затем происходит формирование семядолей (36 – 72 ч), на данном этапе также активируется продукция ауксинов – фитогормонов, которые играют ключевую роль в регуляции роста и развития растений, данные вещества стимулируют растяжение и деление клеток, и регулируют экспрессию генов; на заключительном этапе (72 – 96 ч) начинает формироваться первый лист, растение переходит к автотрофному питанию [3, 116, 140].

*Таким образом, горчица белая (*Sinapis a.*) – двудольное однолетнее растение семейства капустные (*Brassicaceae*), имеющее широкую географию распространения. Отличается значительной интенсивностью роста и развития на ювенильной стадии, преимущественно в первые 96 часов, что определяет целесообразность ее применения в рамках оценки острой фитотоксичности методом фитотестирования.*

Характеристика тест-культуры сорго сахарное (*Sorghum s.*). Сорго сахарное (*Sorghum s.*) – однолетнее однодольное травянистое растение рода сорго (*Sorghum*) семейства злаковые (*Poaceae*) (рисунок 32). Морфологически растение характеризуется прямостоячими высокими стеблями, линейными листьями и метельчатыми соцветиями с мелкими цветками.

Взрослое растение достигает высоты от 1,5 до 3 м. Стебли крепкие, сочные, заполненные сердцевиной, часто с восковым налетом. Листья длинные (до 1 м), узколанцетные, с острой верхушкой, по краям шероховатые, располагаются в шахматном порядке. Корневая система мочковатая, проникающая на глубину до 1,5 – 2 м, что обеспечивает высокую засухоустойчивость. Соцветие – раскидистая метелка длиной от 10 до 60 см, состоящая из колосков двух типов: fertильных (с пестичными и тычиночными цветками) и стерильных. Цветки мелкие, собраны в парные колоски: верхний – обоеполый, нижний – мужской или стерильный. Опыление преимущественно перекрестное, осуществляется ветром. Плод – зерновка округлой или овальной формы, окрашенная в белый, желтый, красный или коричневый цвет, диаметром от 3 до 6 мм. Зерновки заключены в твердые цветковые чешуи, которые у культурных форм легко отделяются при обмолоте [3].

Сорго сахарное обладает высокой термо- и засухоустойчивостью. Семена прорастают при температуре от +12 до 15°C. Растение способно вступать в состояние анабиоза при дефиците влаги, возобновляя рост после дождей. Культура ценится за сочные стебли, богатые сахарами (до 20 % сахарозы), которые используются для производства сиропа, биоэтанола и корма для скота. Корневая система выделяет аллелопатические вещества (сорголеон), подавляющие рост сорняков [22].

Отличительной особенностью является фотосинтетический C_4 -тип, что обеспечивает высокую продуктивность даже при низкой влажности и высоких температурах. Родиной сорго являются тропические и субтропические регионы Африки. В настоящее время культивируется в засушливых зонах Азии, Америки, Австралии и Южной Европы. В России выращивается в Поволжье, на Северном Кавказе и в южных регионах, используется как кормовое и техническое сырье [3].



Рисунок 32. Ботаническая иллюстрация сорго (*Sorghum*) [26, 141]

Данная культура характеризуется относительно невысокой скоростью и интенсивностью прорастания, ювенильная стадия развития занимает от 7 до 14 суток. Процесс роста и развития растения из семени может быть подразделен на несколько этапов: фаза набухания семени (0 – 24 ч) – происходит активное поглощение воды из порового пространства, размягчается наружная оболочка, семя увеличивается в объеме на 30 – 35 %, также происходит активация

ферментов а-амилаза и протеазы, расщепляющих запасные вещества эндосперма (крахмал и белки) до глюкозы и аминокислот; на следующем этапе (24 – 48 ч) начинает формироваться колеориза (защитная корневая оболочка), первичный корень (радикула) удлиняется до 2 – 3 мм, также происходит транспорт ауксинов к корневой зоне для стимуляции роста, и синтез цитокининов в корневых меристемах, которые регулируют деление клеток; затем следует этап (48 – 72 ч), в ходе которого формируется колеоптиль (трубчатая структура, защищающая первый лист в процессе его формирования) и зародышевый стебель, в клетках колеоптиля усиливается активность экспансионов, что способствует растяжению клеток; в следующий временной отрезок (72 – 120 ч) колеоптиль раскрывается освобождая первый настоящий лист, начинает формироваться вторичная корневая система, также на этом этапе начинается переход к автотрофному питанию и усиливается синтез брассиностериоидов, регулирующих морфогенез листьев [3, 116, 140].

*Таким образом, сорго сахарное (*Sorghum s.*) однодольное однолетнее растение семейства злаковые (*Poaceae*), устойчивое к высоким температурам и дефициту влаги, корневая система способна выделять аллелопатические вещества, подавляющие рост сорняков. Интенсивность роста и развития растения на ювенильной стадии несколько ниже, чем у горчицы белой, однако основные процессы формирования ключевых органов завершаются во временном промежутке от начала роста до 120 часов, что позволяет считать данную культуру подходящей для оценки острой фитотоксичности методом фитотестирования.*

5.3. Характеристика используемых загрязняющих веществ

Для создания моделей загрязненного песчаного грунта, наиболее приближенных по составу к реальным песчаным нефтешламам, в рамках данного экспериментального исследования в качестве загрязнителей использовались: зимнее и летнее дизельное топливо (как углеводородное загрязнение) и раствор хлорида натрия (как солевое загрязнение), также были реализованы сценарии одиночного и комплексного загрязнения.

Как отмечалось в главе 2.2, на сегодняшний день дизельное топливо является основным продуктом нефтепереработки в РФ. Его получают путем прямой перегонки нефти при температурах от 250 до 300°C. В общем виде данный нефтепродукт представляет собой смесь углеводородов различной молекулярной массы: парафиновые углеводороды (20 – 40 %); ароматические углеводороды (10 – 30 %); нафтены (циклоалканы) (10 – 20 %); полициклические ароматические углеводороды (<5 %). Состав конкретного дизельного топлива будет зависеть от целей его промышленного использования, а также сезона или температурного режима при

эксплуатации. Ключевыми отличиями зимнего и летнего топлива являются показатели физических и физико-химических свойств (таблица 6) [24].

Летнее дизельное топливо отличается более высокой температурой застывания, повышенным содержанием парафиновых и ароматических углеводородов, также повышенной вязкостью. Большое количество тяжелых фракций в составе снижает «летучесть» и увеличивает время испарения. Состав зимнего топлива оптимизирован для предотвращения загустения путем увеличения содержания легких углеводородов, которые снижают его вязкость и увеличивают интенсивность испарения летучих компонентов [41, 42].

Таблица 6

Сравнение показателей физических свойств летнего и зимнего дизельного топлива [56, 89]

Показатель	Летнее дизельное топливо	Зимнее дизельное топливо
Температура застывания, °C	до -5	до -35
Доля парафиновых углеводородов, %	25 – 40	15 – 30
Доля ароматических углеводородов, %	15 – 30	10 – 25
Плотность (г/см ³)	0,82 – 0,86	0,81 – 0,84
Кинематическая вязкость (мм ² /с)	3,0 – 5,5	1,5 – 4,0
Цетановое число	48 – 52	50 – 54

В рамках экспериментальных исследований было проведено определение компонентного состава используемых вариантов летнего и зимнего дизельного топлива термолитическим методом ступенчатого нагревания Рок-Эвал (Rock-Eval) на приборе HAWK Resource Workstation (Wildcat Technology) по стандартной программе изучения нефтематеринских свит. Пиролитические исследования по данному методу позволяют оценивать количество, качество и степень зрелости органического вещества в породах [59]. Основным принципом пиролиза Рок-Эвал является двухстадийность процесса. В рамках первого цикла проводится пиролиз исследуемого образца в инертной атмосфере по программируемому температурному режиму до 650°C, при котором фиксируется выделение трех пиков органических соединений. Вторым этапом является окисление образца в присутствии воздуха при нагреве от 300 до 850°C, при этом

происходит полное сжигание углерода в породе, в результате определяется количество CO и CO_2 из органического источника (УВ) и количество CO_2 из минерального источника (карбонатов в породе).

Для непосредственного проведения пиролитических исследований использовались подготовленные модели загрязненного песчаного грунта с использованием чистого воздушно-сухого кварцевого песка, отобранного на территории Люберецкого горно-обогатительного комбината, загрязнителями являлись зимнее и летнее дизельное топливо в максимальной, используемой в экспериментальных исследованиях, концентрации (7 масс. %).

На первом этапе были проведены исследования образцов по методу Bulk-Rock для определения общего содержания органического углерода и суммы углеводородных фракций, так как он обладает более высокой точностью, по результатам которого были построены пирограммы (рисунок 33).

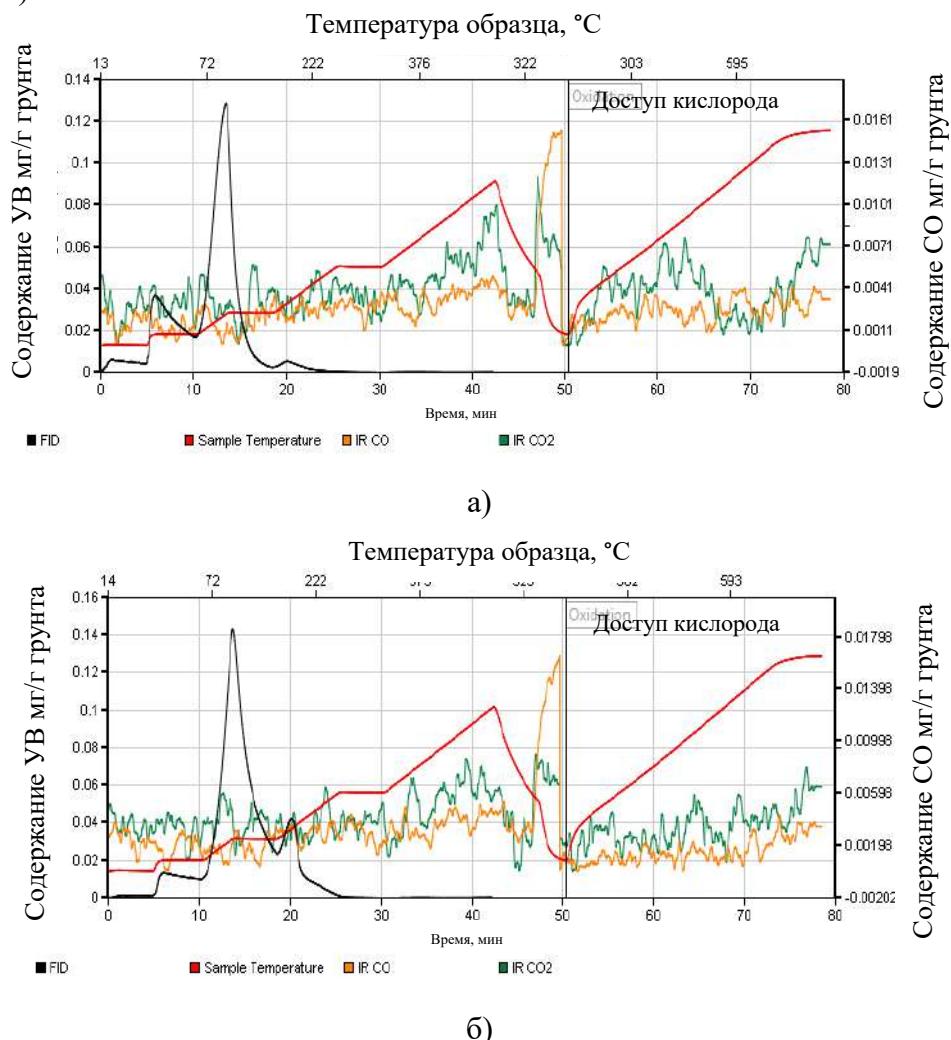


Рисунок 33. Пирограмма, полученная по методу нефтенасыщения, для образца: а) зимнего дизельного топлива; б) летнего дизельного топлива (FID – показания пламенно-ионизационного детектора (количество углеводородов); Sample Temperature – температура образца; IR CO и IR CO₂ – содержание оксидов углерода соответственно)

Затем по результатам метода оценки нефтенасыщения проводилось разделение углеводородных компонентов по нефтяным фракциям.

По результатам анализа компонентного состава органического вещества (ОВ) в образцах загрязненного песчаного грунта, можно сделать вывод о составе используемых вариантов углеводородного загрязнения (таблица 7).

Таблица 7

Компонентный состав используемых в экспериментальных исследованиях
углеводородных соединений¹¹

Компонент, мг УВ/г грунта	Нефтяная фракция	Летнее дизельное топливо	Зимнее дизельное топливо
Насыщенные и ароматические углеводороды	C ₄ – C ₅	0,97±0,07	2,36±0,07
	C ₆ – C ₁₀	7,24±0,50	12,94±0,50
	C ₁₁ – C ₁₉	46,03±0,20	37,52±0,20
Смолы и асфальтены	C ₂₀ – C ₃₆	2,71±0,20	1,83±0,20
	> C ₃₇	0,06±0,01	0,06±0,01

Так отмечается более высокое содержание фракции углеводородов (C₁₁ – C₁₉) в летнем топливе по сравнению с зимним (46,03 и 37,52 мг УВ/г грунта соответственно), причем общее содержание насыщенных и ароматических углеводородов в составе приблизительно равное (54,24 и 52,82 мг УВ/г грунта соответственно).

Как было показано ранее, наиболее токсичными компонентами углеводородного загрязнения являются именно ароматические и полициклические ароматические соединения. Ввиду этого, более высокий показатель содержания фракции (C₁₁ – C₁₉) в летнем варианте дизельного топлива будет определять повышенную концентрацию в его составе наиболее токсичных соединений ПАУ (антрацен C₁₄H₁₀; фенантрен C₁₄H₁₀; пирен C₁₆H₁₀). Содержание средних и тяжелых фракций (смолы, асфальтены) соответствует назначению к определенным условиям эксплуатации данных вариантов дизельного топлива.

¹¹ Пиролитические исследования компонентного органического состава были проведены ведущим научным сотрудником научного центра «Рациональное освоение ресурсов жидких углеводородов планеты» (Rational development of liquid hydrocarbon resources of the planet) Е.В Козловой, на базе лаборатории центра добычи углеводородов СколТеха

В качестве загрязняющего вещества, характеризующего засоление песчаных грунтовых систем, а также процесса «техногенного галогенеза» был выбран хлорид натрия – соль в виде кристаллов без примесей. Для инициирования взаимодействия песчаной грунтовой системы и хлорида натрия, добавление данного загрязнителя в систему осуществлялось путем растворения соли в дистиллированной воде с целью получения раствора необходимой концентрации.

Таким образом, для моделирования процесса загрязнения песчаной грунтовой системы в реальных условиях, в проведенных экспериментальных исследованиях в качестве загрязняющих веществ использовались два варианта дизельного топлива: летнее и зимнее (как углеводородное загрязнение), а также раствор хлорида натрия ($NaCl$) (как солевое загрязнение).

Выводы к главе 5

1. В экспериментальных исследованиях использовались четыре различных вида песчаных грунтов, отобранных: 1 – на территории Люберецкого горно-обогатительного комбината; 2 – на территории месторождения «Мураевня»; 3 – на территории месторождения «Гора Хрустальная»; 4 – на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения. Все исследуемые пески характеризуются однородностью гранулометрического и минерального составов, преобладающим минералом является кварц (SiO_2). Химический состав, определенный по содержанию основных оксидов, соответствует минеральному. Наличие аутигенных пленок на поверхности кварцевых частиц было подтверждено только для пробы песчаного грунта с «Усть-Балыкского» месторождения. Также было определено содержание аморфного кремнезема, для исследуемых песков. Диапазон изменения данного показателя составил от 0,29 до 1,84 масс. %. По результатам инструментального определения удельной поверхности песчаных грунтов были получены значения в интервале от 0,1 до 0,4 m^2/g , величина показателя определяется гранулометрическим составом и степенью окатанности зерен. Исследуемые песчаные грунты характеризуются слабокислой средой раствора водной вытяжки. Также определение уреазной, дегидрогеназной и пероксидазной активностей показало, что для исходных чистых песков данные показатели не характерны, за исключением песка с территории нефтяного месторождения. Общая численность микроорганизмов, определенная в исследуемых песках, составила от 0,06 до $4,42 \times 10^7$ кл/кг сух. грунта, причем наибольшее значение соответствует песку, отобранному в пределах нефтепромысла.

2. Горчица белая (*Sinapis a.*) – двудольное однолетнее растение семейства капустные (*Brassicaceae*), имеющее широкую географию распространения, отличается значительной интенсивностью роста и развития на ювенильной стадии, преимущественно в первые 96 часов. Это определяет целесообразность ее применения в рамках оценки острой фитотоксичности

методом фитотестирования. Сорго сахарное (*Sorghum s.*) – однодольное однолетнее растение семейства злаковые (*Poaceae*), устойчивое к высоким температурам и дефициту влаги, его корневая система способна выделять аллелопатические вещества. Интенсивность роста и развития растения на ювенильной стадии несколько ниже, чем у горчицы белой, однако основные процессы формирования ключевых органов завершаются во временном промежутке от начала роста до 120 часов, что позволяет считать данную культуру подходящей для оценки острой фитотоксичности методом фитотестирования.

3. Таким образом, для моделирования процесса загрязнения песчаной грунтовой системы и приближения моделей к реальным условиям, при проведении экспериментальных исследованиях в качестве загрязняющих веществ использовались два варианта дизельного топлива: летнее и зимнее (как углеводородное загрязнение), а также раствор хлорида натрия (как солевое загрязнение).

Исходя из результатов диссертационного исследования, изложенных в главе 4, можно сформулировать следующее защищаемое положение:

2. Для мономинеральных кварцевых песчаных грунтов не характерны значимые уровни биологической активности. Уреазная, дегидрогеназная и пероксидазная ферментативные активности в целом находятся на уровне предела обнаружения. Общая численность активных микробных сообществ (ОЧМ) в песчаных грунтах составляет от $0,06$ до $4,42 \times 10^7$ кл/кг сух. грунта. Появление ферментативной активности или увеличение ОЧМ свидетельствует о наличии в песчаном грунте тех или иных включений или о существенном уровне антропогенного воздействия на подобную грунтовую систему.

Глава 6. Методика экспериментального исследования системы «загрязненный песчаный грунт – растение»

Весь объем проведенных экспериментальных исследований включал в себя: создание моделей одиночно и комплексно загрязненных песчаных грунтов; определение показателей их физических свойств, минерального и химического состава. Были проведены электронно-микроскопические исследования поверхности кварцевых зерен в исследуемых песках и определение содержания подвижной кремнекислоты для оценки возможности протекания физико-химических процессов при внесении загрязнителей. Отдельный блок был посвящен оценке влажностных характеристик и активности влаги в полученных грунтовых системах. Основным этапом являлось проведение экотоксикологических исследований, включающих в себя аппликатное планшетное фитотестирование и оценку показателей биотических свойств на различных этапах вегетационного эксперимента (рисунок 34). По истечении времени экспозиции планшетного аппликатного фитотестирования показатели морфометрических параметров измерялись автоматическим методом с использованием программного комплекса «STIMAN». Все полученные результаты были статистически обработаны с помощью программного комплекса «STATISTICA» с применением метода дисперсионного анализа ANOVA (Приложение 4).

Экспериментальные исследования по созданию и анализу особенностей состава и свойств загрязненных песчаных грунтовых систем проведены на базе лаборатории «Грунтоведения и технической мелиорации грунтов» кафедры инженерной и экологической геологии, геологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова и испытательной геотехнической лаборатории (ИГЛ) бюро комплексных инженерных изысканий (БКИИ) АО «Атомэнергопроект»; определение содержания подвижной кремнекислоты и показателей биотических свойств выполнены на кафедре химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова на базе научно-исследовательской лаборатории экобиокатализа; дополнительные исследования характера поверхности песчаных зерен проведены в лаборатории Научного центра «Инженерные барьеры» ИГЕМ РАН. Исследования компонентного состава используемых углеводородных загрязнителей и определение показателей активности воды выполнены в лаборатории центра добычи углеводородов Сколтеха. Эксперимент по аппликатному планшетному фитотестированию проводился в лаборатории экотоксикологического анализа почв МГУ имени М.В.Ломоносова («ЛЭТАП») и ИГЛ БКИИ.

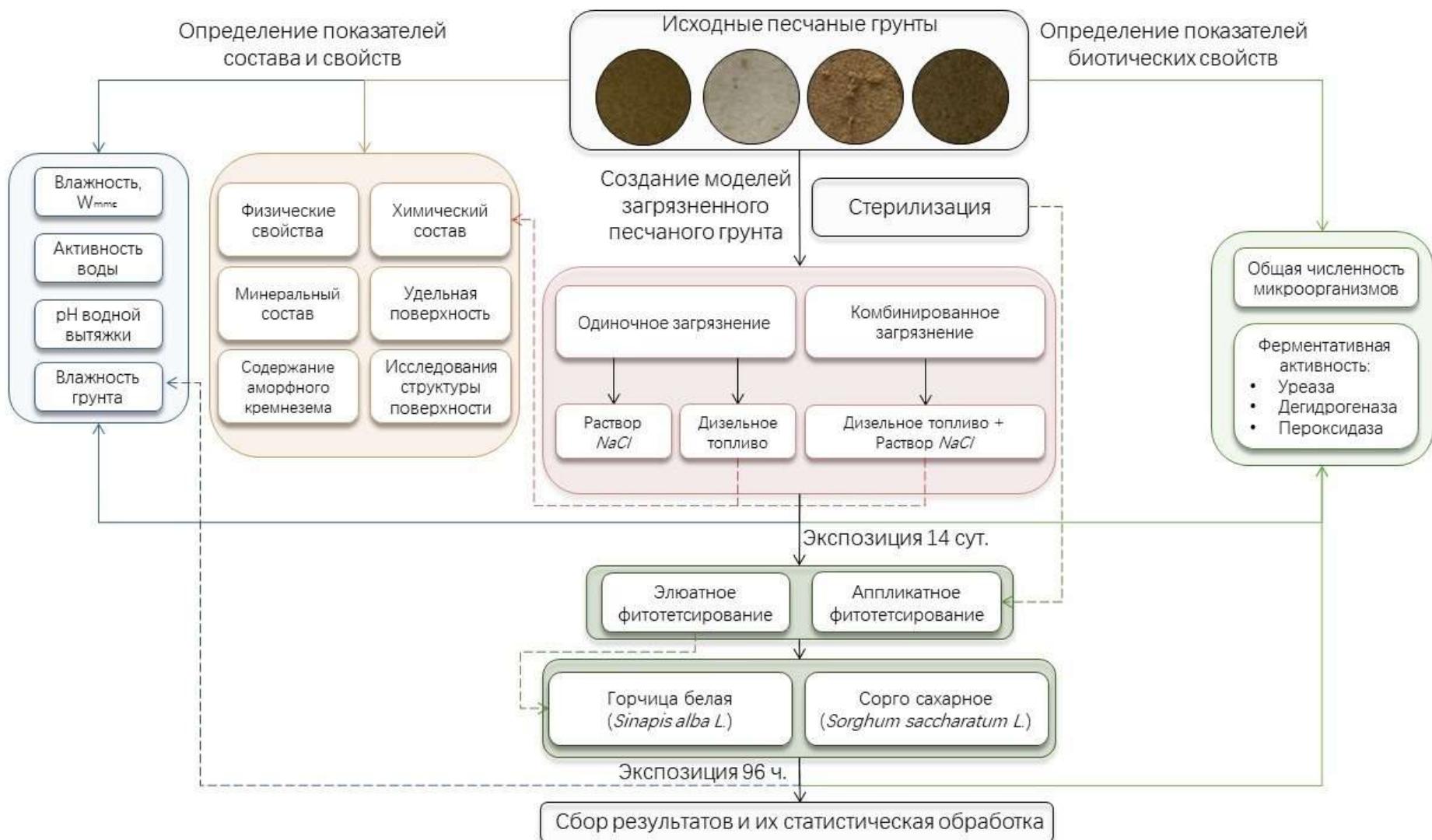


Рисунок 34. Общая схема экспериментальных исследований

6.1. Создание моделей загрязненного песчаного грунта

Широко известен тот факт, что в природных условиях редко можно встретить изолированное токсическое действие какого-либо загрязняющего вещества. Чаще всего в грунтовой системе находится одновременно несколько загрязнителей, которые могут, как усиливать токсический эффект друг друга, так и снижать его. Данная закономерность особенно характерна для территорий районов нефтедобычи, что было изложено в главе 2.2. В связи с этим для получения наиболее адекватной оценки биологической значимости уровня и состава загрязнения в рамках экспериментальных исследований для каждого из используемых песков было приготовлено 14 моделей с одиночным углеводородным или солевым загрязнением, включая контрольный образец, и 21 модель с комбинированным загрязнением (рисунок 35). Таким образом, было создано 140 моделей загрязненного песчаного грунта. Стоит отметить, что в рамках настоящего экспериментального исследования в качестве углеводородного загрязнения использовалось летнее дизельное топливо, ввиду того что исследования влияния зимнего топлива были выполнены ранее [15, 19].

Основываясь на опыте проведения планшетного фитотестирования нефтезагрязненных песчаных грунтов предыдущими исследователями [61, 72, 85, 102], а также собственных экспериментальных исследований [8, 15, 17, 19, 20, 50, 52], для создания моделей с одиночным углеводородным загрязнением были выбраны концентрации дизельного топлива: 0,1, 0,3, 0,5, 0,7, 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7 масс. %. Это означает, что при создании моделей в навеску воздушно-сухого песчаного грунта вносились необходимое количество углеводородного загрязнения. Также на основании анализа исследований по фитотестированию солевого загрязнения грунтовых систем [49, 103] и проведенных ранее собственных экспериментальных исследований [17, 19, 52] были выбраны концентрации хлорида натрия: 0,1, 0,3, и 0,5 масс. %. Процесс внесения загрязнения заключался в предварительном растворении необходимой навески кристаллической соли в дистиллированной воде и последующем внесении раствора в песчаную грунтовую систему. После внесения загрязнителей песчаный грунт тщательно перемешивался и полученные модели выставлялись на экспозицию длительностью 14 суток для достижения максимально равновесного распределения загрязняющих веществ в грунтовой системе. Экспозиция осуществлялась в плотно закрытых контейнерах в темном помещении при температуре +20°C.

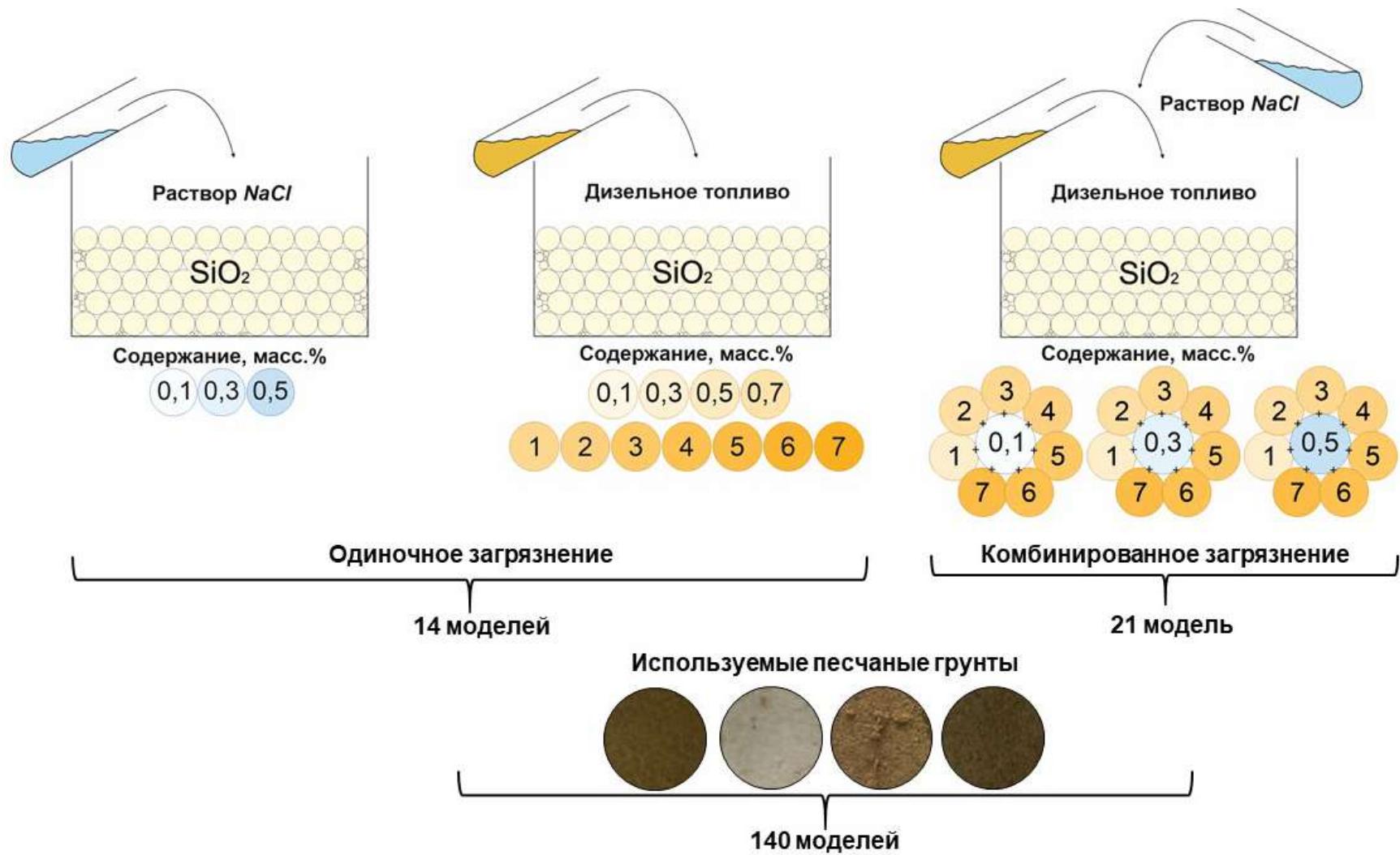


Рисунок 35. Схема создания моделей загрязненного песчаного грунта

Оценка влияния взаимодействия двух загрязняющих веществ в песчаной грунтовой системе на биологическую реакцию, используемых при фитотестировании высших растений, проводилась путем создания моделей с комбинированным загрязнением. Каждый вариант концентрации дизельного топлива сочетался с концентрациями раствора хлорида натрия, путем поочередного внесения в грунтовую систему. На основании ранее проведенных исследований было определено, что порядок внесения углеводородного и солевого загрязнений в песчаный грунт не оказывает значимого влияния на результаты фитотестирования [8]. По окончанию периода экспозиции у подготовленных загрязненных песчаных грунтовых систем определялись показатели влажностных характеристик, в том числе влажность максимальной молекулярной влагоемкости, а также показатели биотических свойств.

6.2. Методика определения содержания подвижных форм кремнезема

Содержание подвижных форм соединений кремнекислоты, а также их распределение в системе характеризует степень развития в ней процессов выветривания и почвообразования. Различают силикатные и несиликатные формы соединений компонентов грунтов. Силикатными называют окислы, входящие в состав минералов и горных пород, несиликатными – те окислы, которые находятся в свободном, подвижном состоянии, чаще всего они аморфные. Термин «подвижная» (аморфная, свободная) в данном случае рассматривается как условный, так как при растворении образца в 5 % растворе KOH в растворенную форму переходит не только гель кремневой кислоты, но и мелкодисперсный кварц, если он присутствует в системе [11].

К.К. Гедройц объяснял образование подвижной кремнекислоты в почвах и грунтовых смесях следствием разрушения коллоидного комплекса ввиду наличия в системе реакционноспособного иона натрия. Некоторые исследователи интерпретировали появление аморфной кремнекислоты за счет биологических факторов [4].

Метод определения основан на образовании растворимого метасиликата и алюмината калия при взаимодействии грунта с 5 % раствором щелочи. В полученной вытяжке определяют содержание SiO_2 и Al_2O_3 и пересчитывают показатели по методике К.К. Гедройца. Накопление и содержание кремнезема сверх того количества, которое отвечает формуле каолина, включающего в себя только определяемые окислы кремния и алюминия, считают показателем присутствия в исследуемом образце подвижной или аморфной кремнекислоты [4].

Сам процесс определения заключается в первичном переводе полуторных окислов алюминия и окислов кремния в подвиженную форму путем кипячения в растворе KOH и последующего высушивания (рисунок 36). Промывание полученного осадка осуществляют нагретой соляной кислотой (HCl), данный процесс повторяется до полного перехода

определяемых химических соединений в подвижное состояние. Затем выделение SiO_2 из раствора производится солянокислым методом, с последующим прокаливанием до постоянной массы.

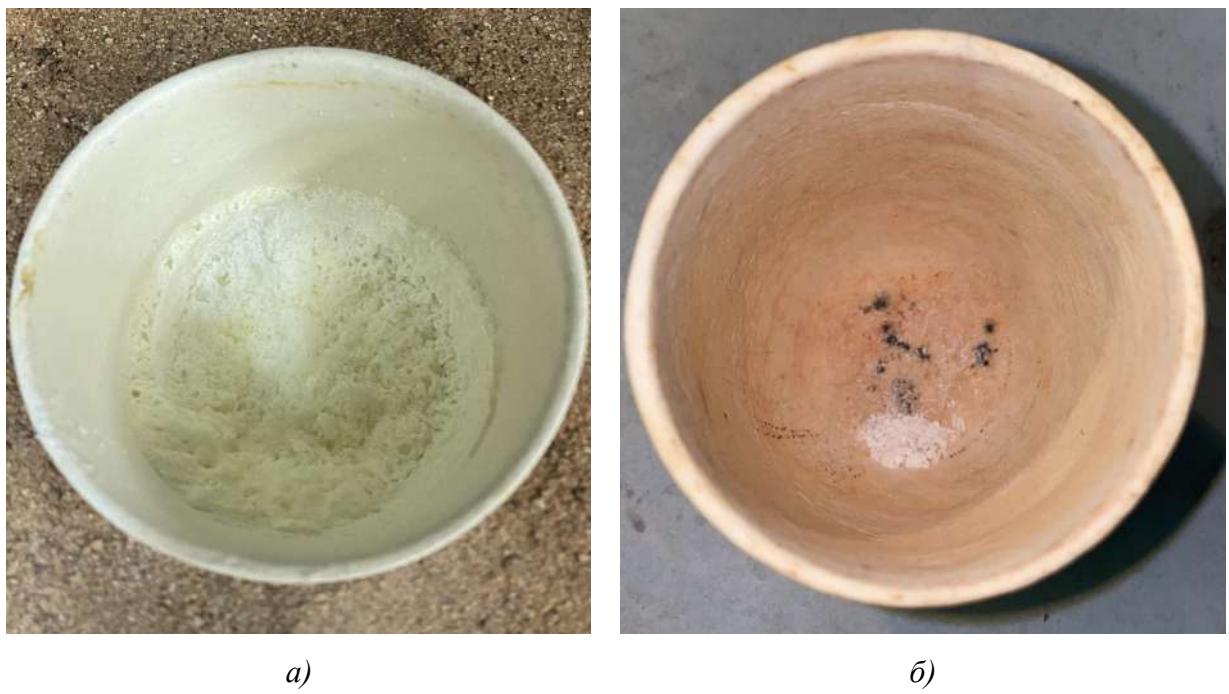


Рисунок 36. Характерные этапы определения содержания соединений аморфного кремнезема в песчаном грунте по методу К.К. Гедройца: *а*) выпаренный гель кремниевой кислоты после удаления органических веществ; *б*) аморфные соединения кремния после прокаливания фильтра в муфельной печи

Пересчет содержания аморфной кремнекислоты происходит путем перевода процентных содержаний определяемых окислов в эквивалентные значения. По соотношению эквивалентных значений SiO_2 и Al_2O_3 определяют содержание подвижной кремнекислоты [4].

Исходя из соотношения оксидов кремния и алюминия в составе каолинита (2:1) сравнивают эквивалентное количество кремнекислоты с количеством полуторного окисла алюминия. Путем вычитания полученных значений определяется эквивалентное и, затем, процентное содержание подвижного (аморфного) кремнезема.

6.3. Методика определения показателей биотических свойств исследуемых песчаных грунтов

В рамках данного экспериментального исследования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» проводилось определение показателей биотических свойств песчаных грунтов, а именно количественная оценка общей численности микроорганизмов и активность ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы. Стоит отметить, что для получения представления о

динамике изменения данных показателей, все измерения выполнялись в образцах чистых и загрязненных песчаных грунтов, а также до и после проведения вегетационного эксперимента по фитотестированию.

6.3.1. Методика определения ферментативной активности

Для оценки активности различных ферментов в грунтовых системах в практике лабораторных исследований применяются различные методы: спектрофотометрические, флуориметрические, хроматографические, калориметрические, радиометрические и др. Выбор того или иного метода зависит от типа определяемого фермента, требований к чувствительности и точности, доступности необходимого оборудования. В рамках определения ферментативных активностей: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы, в настоящем экспериментальном исследовании использовался спектрофотометрический метод [18].

Данный метод является наиболее эффективным при определении обозначенного выше набора ферментов. Принцип заключается в поглощении света в определенных участках спектра (измерении изменения оптической плотности) соединениями, являющимися активными группами ферментов, субстратами или продуктами реакций. Особенностью метода является высокая чувствительность, скорость определения и малый расход реагентов [9]. Определение проводится в приготовленных растворах водных вытяжек из исследуемых образцов грунта, при этом, так как в грунтовой системе могут присутствовать вещества аналогичные продуктам реакции распада органических соединений, используемых в качестве субстратов при энзимологических исследованиях, проводят два контрольных измерения: без органического субстрата (для получения представления о наличии веществ схожих с продуктами ферментативной реакции) и без грунта, на дистиллированной воде (для контроля чистоты реагентов).

Определение дегидрогеназ, ферментов класса оксидоредуктаз, катализирующих дегидрирование органических веществ и осуществляющих перенос водорода, проводится с использованием в качестве субстрата соли тетразолия, в частности 2,3,5-трифенилтетразолийхлорид (ТТХ), который, акцептируя мобилизованный дегидрогеназой водород, превращается в 2,3,5-трифенилформазан (ТФФ), имеющий красную окраску [9]. Обязательным требованием является проведение ферментативной реакции в анаэробных условиях, которые создаются путем непрерывной прогонки аргона через сосуды с анализируемым субстратом, по завершению реакции проводят экстракцию осажденного формазана этиловым спиртом (рисунок 37).



Рисунок 37. Сосуды с исследуемыми растворами водных вытяжек из песчаных грунтов при определении ферментативной активности дегидрогеназы

Пероксидаза, фермент класса оксидоредуктаз, катализирует окисление органических веществ грунтов (моно-, ди-, три-фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений) за счет кислорода, выделяющегося при разложении перекиси водорода и других органических перекисей [7]. Под действием этого кислорода при участии пероксидазы полифенолы окисляются и переходят в хиноны. Метод основан на измерении скорости окисления гидрохинона кислородом воздуха по интенсивности окраски образующегося хиона (рисунок 38).

Определение уреазы, фермента класса гидролаз, катализирующего гидролиз мочевины до аммиака и углекислого газа, проводится с использованием мочевины в качестве субстрата. Образовавшийся аммиак взаимодействует с реагентом Несслера (щелочной раствор йодида калия и ртути), формируя йодид меркураммония, который окрашивает раствор в желто-коричневый цвет. В ходе проведения экспериментального исследования необходимо поддерживать оптимальный pH (7,0 – 7,5) субстрата с использованием фосфатного буфера и контролировать температуру инкубации (37°C) [9]. Прекращение реакции по истечении периода инкубации (24 ч) проводится путем добавление серной кислоты и последующей экстракции окрашенного комплекса (рисунок 39).

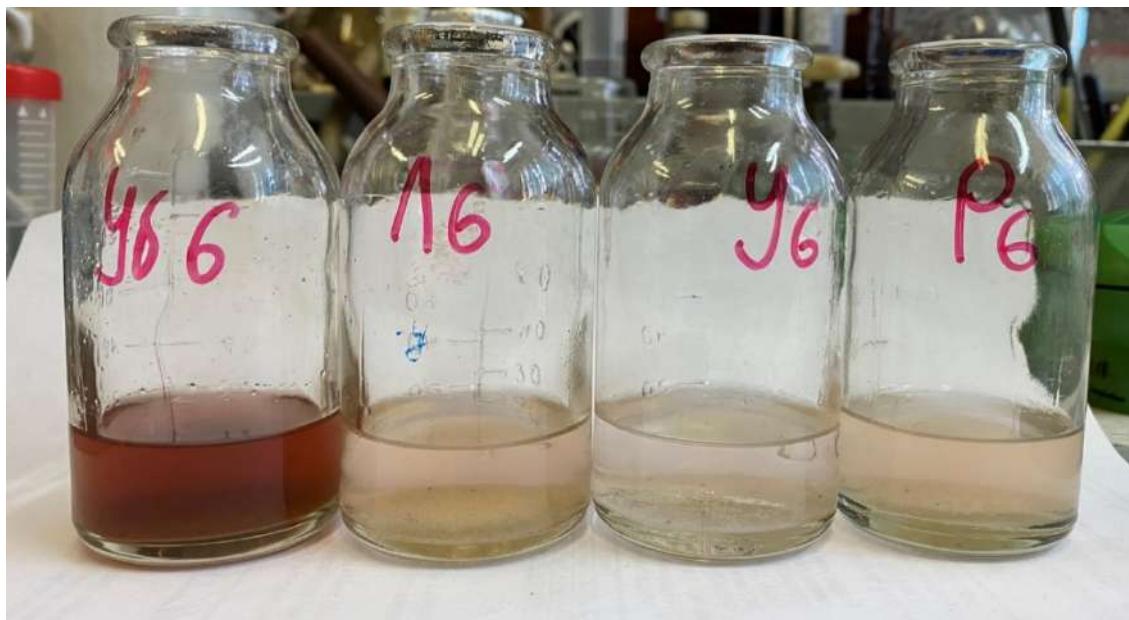


Рисунок 38. Сосуды с исследуемыми растворами водных вытяжек из песчаных грунтов при определении ферментативной активности пероксидазы



Рисунок 39. Сосуды с исследуемыми растворами водных вытяжек из песчаных грунтов при определении ферментативной активности уреазы

Таким образом, в рамках экспериментальных исследований было проведено определение показателей активностей ферментов спектрофотометрическим методом: дигдрогеназы, пероксидазы и уреазы, которые характеризуют биокатализитические свойства исследуемых песчаных грунтовых систем.

6.3.2. Методика определения общей численности микроорганизмов

Общая численность микроорганизмов является прямым показателем биологической активности песчаной грунтовой системы. В лабораторной практике определения применяются различные методы: культуральные, молекулярные (секвенирование), микроскопические и люминисцентные [146]. В рамках исследования грунтовых систем наиболее предпочтительными являются культуральные методы, основанные на посеве образцов на питательные среды с последующим подсчетом колониеобразующих единиц. Одним из наиболее распространенных и эффективных инструментов для подобных исследований являются пластины Петри-фильм (рисунок 40).

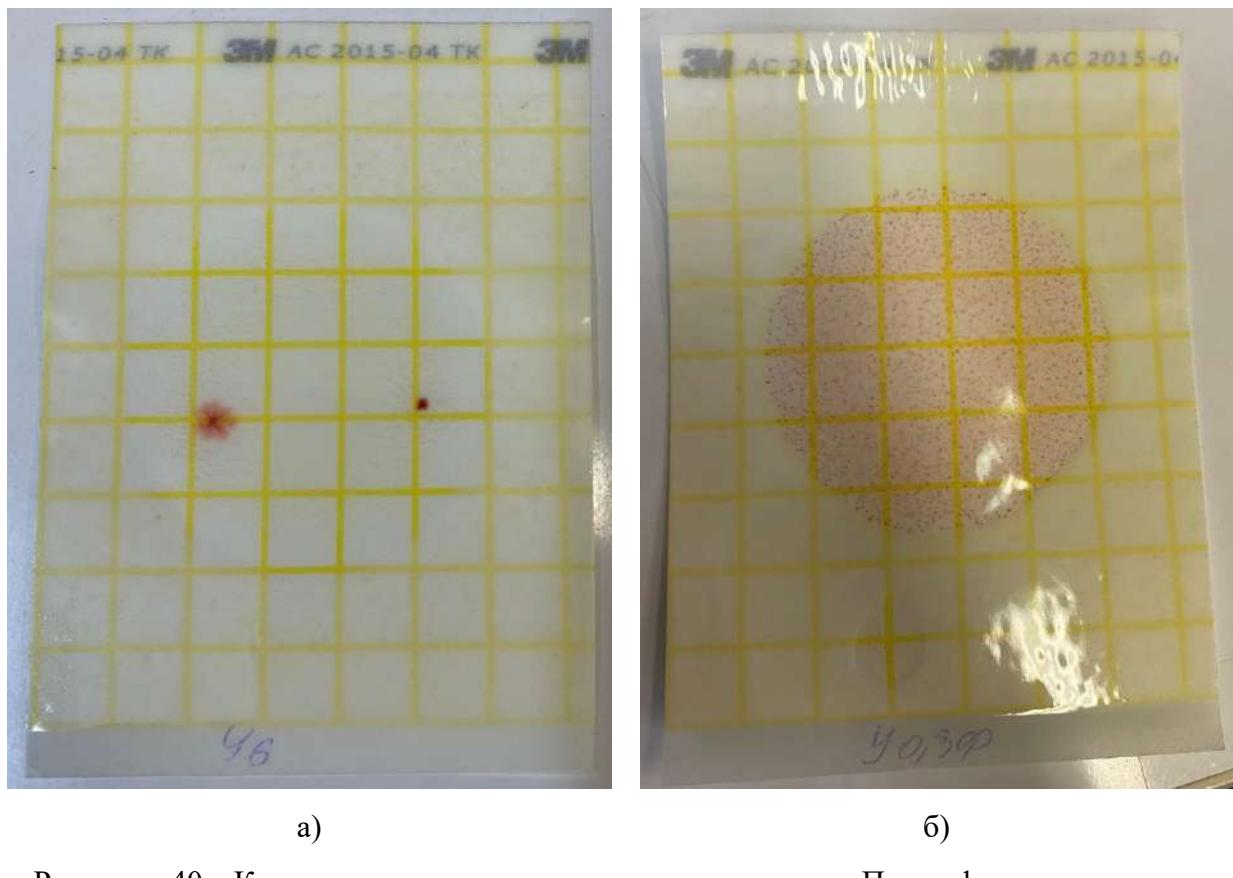


Рисунок 40. Колонии микроорганизмов на пластинах Петри-фильм, высеванные на суспензиях, приготовленных из образцов исследуемых песчаных грунтов: а) до вегетационного эксперимента; б) после вегетационного эксперимента

Принцип количественного определения общей численности микроорганизмов с использованием пластин Петри-фильм заключается в посеве суспензии, приготовленной из образца исследуемого грунта, на питательную среду, иммобилизованную на полимерной основе. Данный метод, проводимый по регламентированной методике, обладает достаточно высокой чувствительностью и относительно прост в обработке полученных данных. Численность микроорганизмов оценивалась в суспензиях, приготовленных из навесок исследуемых образцов

песчаных грунтов с использованием стерилизованной воды при разведении в три раза. Для оценки динамики изменения данного количественного показателя определение проводилось на всех образцах загрязненных песчаных грунтов до и после проведения вегетационного эксперимента. Подсчет количества колоний проводился визуальным способом на трети сутки после инкубирования [52].

6.4. Методика проведения фитотестирования

Существует два принципиально разных подхода к проведению фитотестирования на высших растениях. Элюатный метод предполагает приготовление водной вытяжки из загрязненных грунтовых систем и последующее использование полученного раствора как субстрата для проращивания семян тест-культуры. При аппликатном методе – наоборот, непосредственно загрязненный песчаный грунт является субстратом для роста и развития семян. На сегодняшний день в практике проведения экотоксикологических исследований грунтов наиболее широко применяются методы, основанные на использовании водных вытяжек, однако, с базовых позиций грунтоведения оценка биологической значимости уровня и состава загрязнения подобной сложной многокомпонентной и динамичной системы таким методом не позволяет исследователям учесть влияние возможных физических и физико-химических взаимодействий, происходящих в грунте.

В рамках настоящего исследования был проведен эксперимент по оценке биологической значимости уровня и состава загрязнения в песчаном грунте методом планшетного аппликатного и элюатного фитотестирования с использованием двух тест-культур: двудольной – горчицы белой (*Sinapis a.*) и однодольной – сорго сахарного (*Sorghum s.*). Каждый вегетационный эксперимент проводился в трехкратной повторности. По истечении экспозиционного периода были измерены исследуемые тест-параметры: длина корня, длина ростка и всхожесть семян тест-культур.

Исследования проводились по методике, предлагаемой ГОСТ Р ИСО 18763–2019 [13], с обязательным контролем влажностных характеристик в ходе проведения вегетационного эксперимента. Общая схема методики проведения планшетного фитотестирования представлена в Приложении 1.

В соответствии с требованиями методики, перед началом проведения эксперимента была проведена оценка всхожести конкретных используемых семян тест-культур, по результатам которой, всхожесть горчицы белой (*Sinapis a.*) составила 97 %, сорго сахарного (*Sorghum s.*) – 93 %, что отвечает установленным требованиям к данному показателю.

Методика проведения эксперимента предполагает обязательную дезинфекцию используемого оборудования и планшетов. В случае аппликатного (контактного) метода в качестве субстрата используется 90 см^3 доведенного до влажности, соответствующей 60 % от полной влагоемкости ($S_r=60\%$) песчаного грунта, который укладывается в нижнюю камеру планшета. При проведении элюатного фитотестирования субстратом является раствор водной вытяжки, приготовленный путем фильтрации суспензии песчаного грунта. На расстоянии 1 см от верхней границы используемого субстрата размещаются 10 семян тест-культуры на равном расстоянии друг от друга. Затем планшеты подписываются с указанием номера пробы и повторности и помещаются в горизонтальном положении в климатостат с температурой $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (рисунок 41, а). По истечении 24 – 36 часов с начала экспозиции планшеты переворачиваются в вертикальное положение. Общее время экспозиции составляет 96 часов, по истечении которого проводят измерение исследуемых тест-параметров (рисунок 41, б, в).

Для контроля влажности исследуемых проб загрязненного песчаного грунта в ходе проведения эксперимента, отбираются пробы на влажность непосредственно перед постановкой планшетов с семенами на экспозицию, и также после проведения эксперимента перед измерением фиксируемых тест-параметров.

Для оценки биологической значимости используемых в эксперименте загрязняющих веществ измеряются следующие тест-параметры: всхожесть, длина корня и длина ростка, затем проводится статистическая обработка полученных результатов.

Также с целью ускорения и упрощения процесса измерения итоговых морфометрических показателей (длина корня и длина ростка) проросших семян используемых тест-культур применялись автоматические¹² и полуавтоматические методы анализа изображений (рисунок 42).

На первом этапе проведения исследований по фитотестированию загрязненных песчаных грунтов была проведена серия экспериментов с использованием аппликатного и элюатного методов, где в качестве тест-культуры использовалась горчица белая (*Sinapis a.*), исследуемый грунт – песок, отобранный на территории Люберецкого горно-обогатительного комбината. Выбор загрязнителей, а также их концентраций был основан на результате анализа, проведенного в главе 2.2, и с учетом особенности загрязнения песчаных грунтов в пределах районов нефтедобычи.

¹² Разработка программного комплекса для автоматической обработки результатов на базе STIMAN, была выполнена О.В. Разгулиной ведущим инженером лаборатории грунтоведения и технической мелиорации грунтов, кафедры инженерной и экологической геологии, геологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

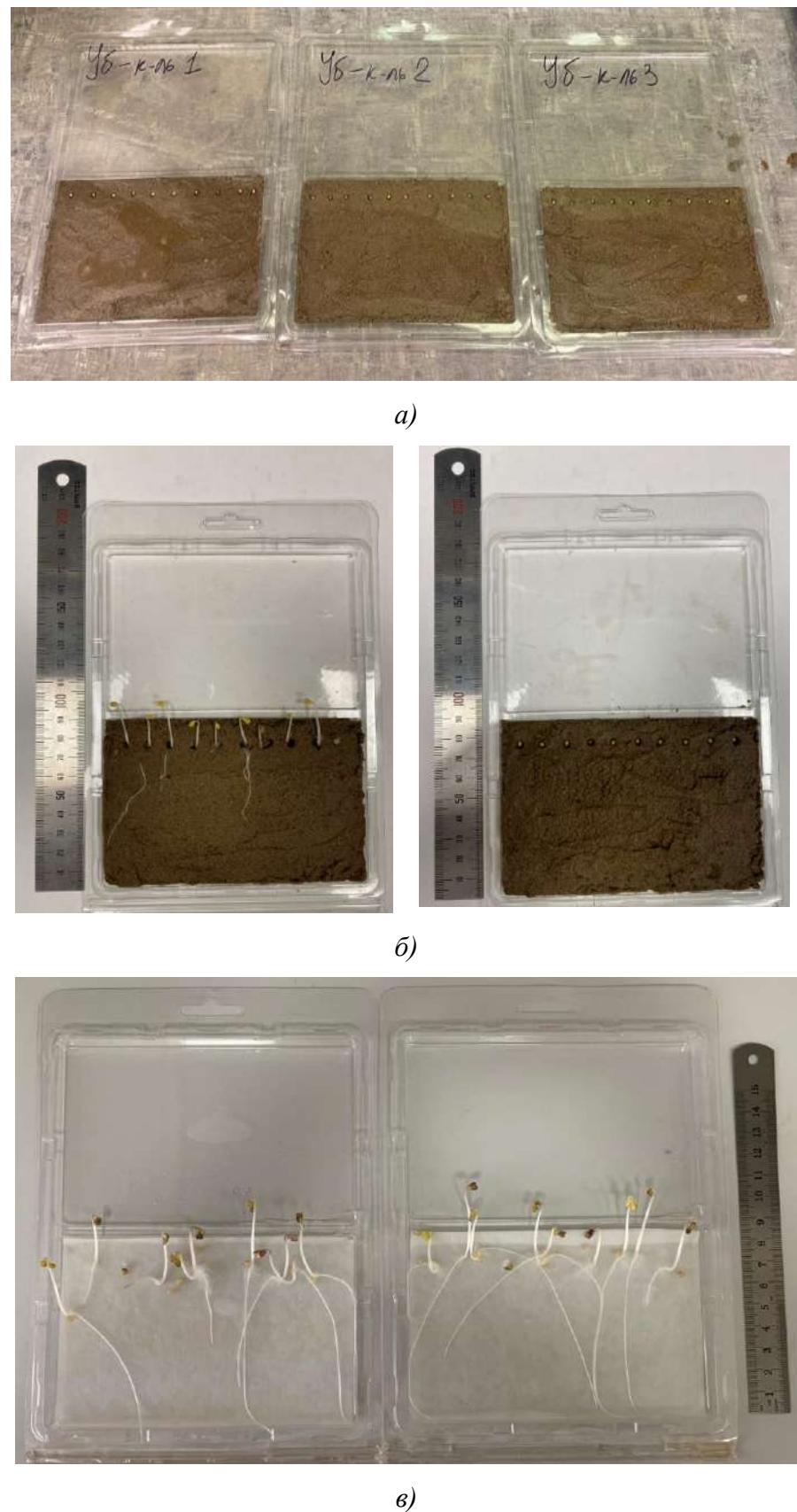
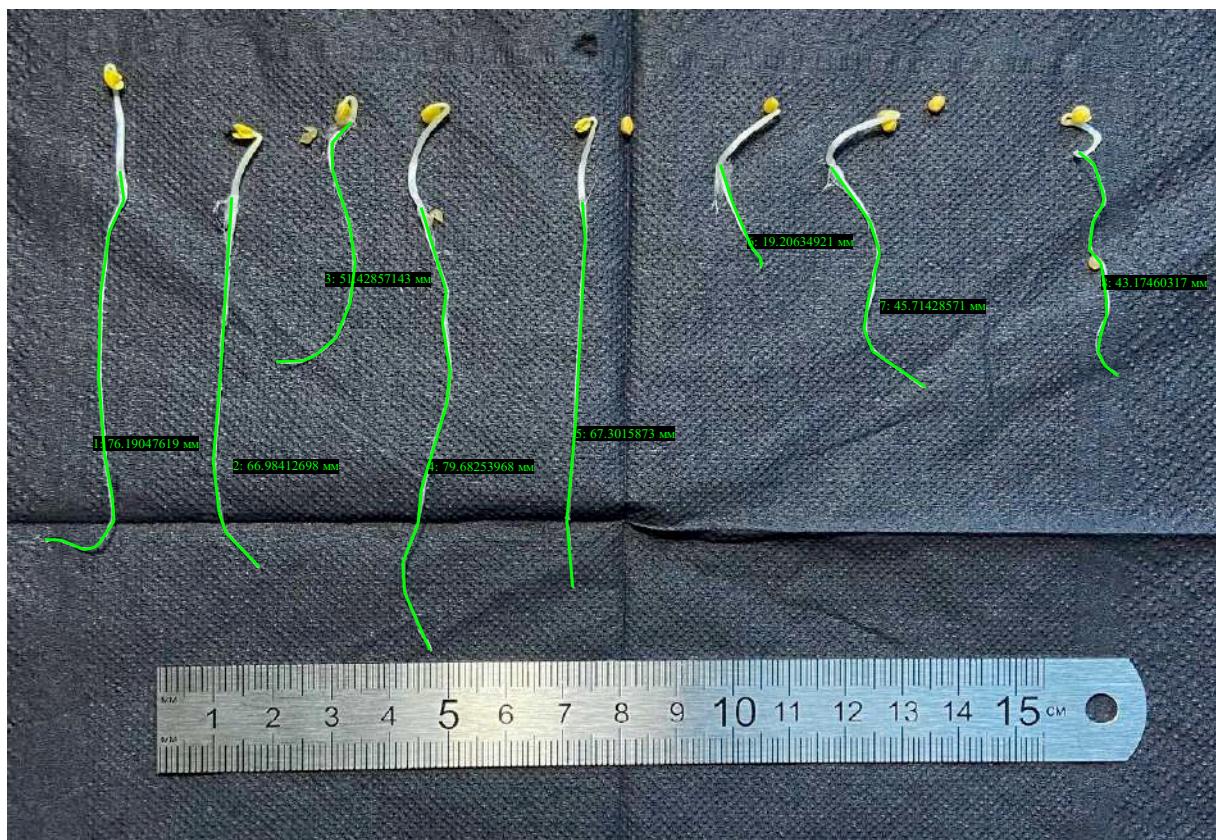
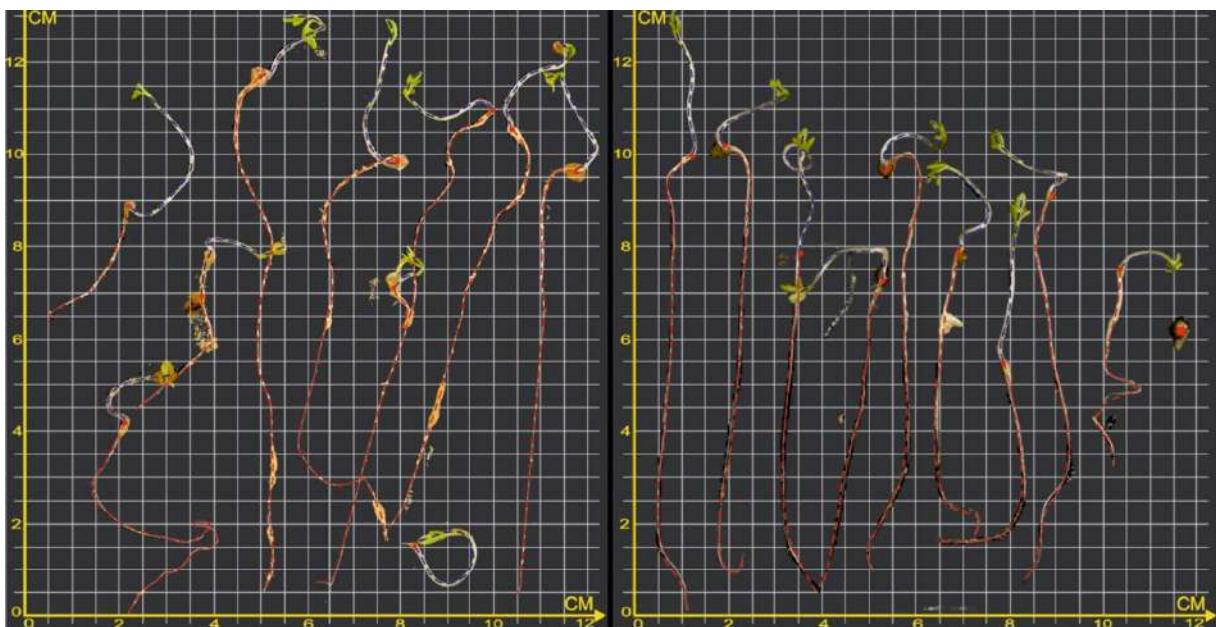


Рисунок 41. Этапы проведения планшетного фитотестирования: а) подготовленные к экспозиции планшеты; планшеты по истечении времени экспозиции в варианте: б) аппликатного; в) элюатного методов



a)



Seed	s1	s2	s3	s4	s5	s6	s7	s8	s9	s10	Seed	s1	s2	s3	s4	s5	s6	s7	s8	s9	s10
Length (cm)	2.5	4.1	2.3	2.3	3.1	4.0	2.4	3.5	3.5	2.5	Length	3.5	2.1	3.8	3.9	2.8	3.6	3.5	5.1	2.2	0.0
Length (cm)	0.3	2.9	6.5	3.7	10.1	9.4	0.6	8.8	10.0	8.4	Length	8.6	9.4	8.1	7.1	9.2	6.7	6.8	4.8	5.4	0.0

б)

Рисунок 42. Примеры измерения морфометрических параметров (длина корня, длина ростка) тест-культур с применением методов анализа изображений: а) автоматизированного; б) полуавтоматического

По результатам были построены графики зависимости значений исследуемых тест-параметров (длина корня, длина ростка, всхожесть) от концентрации используемых загрязняющих веществ как в случае одиночного, так и комбинированного вариантов загрязнения. Также был рассчитан эффект токсичности (ЭТ, \%) по отношению к показателю длины корня семян тест-культуры в сравнении с контрольной пробой согласно формуле:

$$\text{ЭТ}_i = \frac{x_i \text{ проба} - x_i \text{ контроль}}{x_i \text{ контроль}} \times 100,$$

где x_i проба, x_i контроль – среднее арифметическое значение i -го тест-параметра (длина корня, см) в исследуемом образце и контроле, соответственно. Если значение ЭТ положительное, то наблюдается эффект торможения, вызванный токсическим воздействием загрязнителя, если отрицательное, то эффект стимуляции.

На рисунках 43 и 44 представлены результаты определения эффекта токсичности одиночно и комбинированно загрязненных песчаных грунтов по отношению к горчице белой (*Sinapis a.*), а также фотоизображения планшетов, в которых происходило проращивание семян, с применением двух методов фитотестирования: аппликатного (рисунок 43) и элюатного (рисунок 44). Анализируя полученные данные, можно утверждать, что в случае применения аппликатного метода фитотестирования, при котором в качестве субстрата используется непосредственно сам загрязненный песчаный грунт, токсический эффект по отношению к используемой тест-культуре закономерно возрастает при увеличении уровня и усложнении состава загрязнения. Причем наибольший токсический эффект ($>90\%$) возникает при комбинированном загрязнении.

Напротив, в случае применения элюатного метода фитотестирования, при котором в качестве субстрата для проращивания семян используется раствор водной вытяжки, приготовленной из загрязненного песчаного грунта, наблюдается практически полное отсутствие биологически значимого токсического эффекта по отношению к используемому высшему растению. Так, в независимости от уровня и состава загрязнения значения эффекта токсичности находятся в диапазоне от 4 до 13 %. Исходя из чего, можно заключить, что при условии применения элюатного метода фитотестирования, во всем диапазоне исследуемых концентраций загрязнителей биологически значимого токсического эффекта на морфометрические показатели и всхожесть семян горчицы белой (*Sinapis a.*) не возникает.

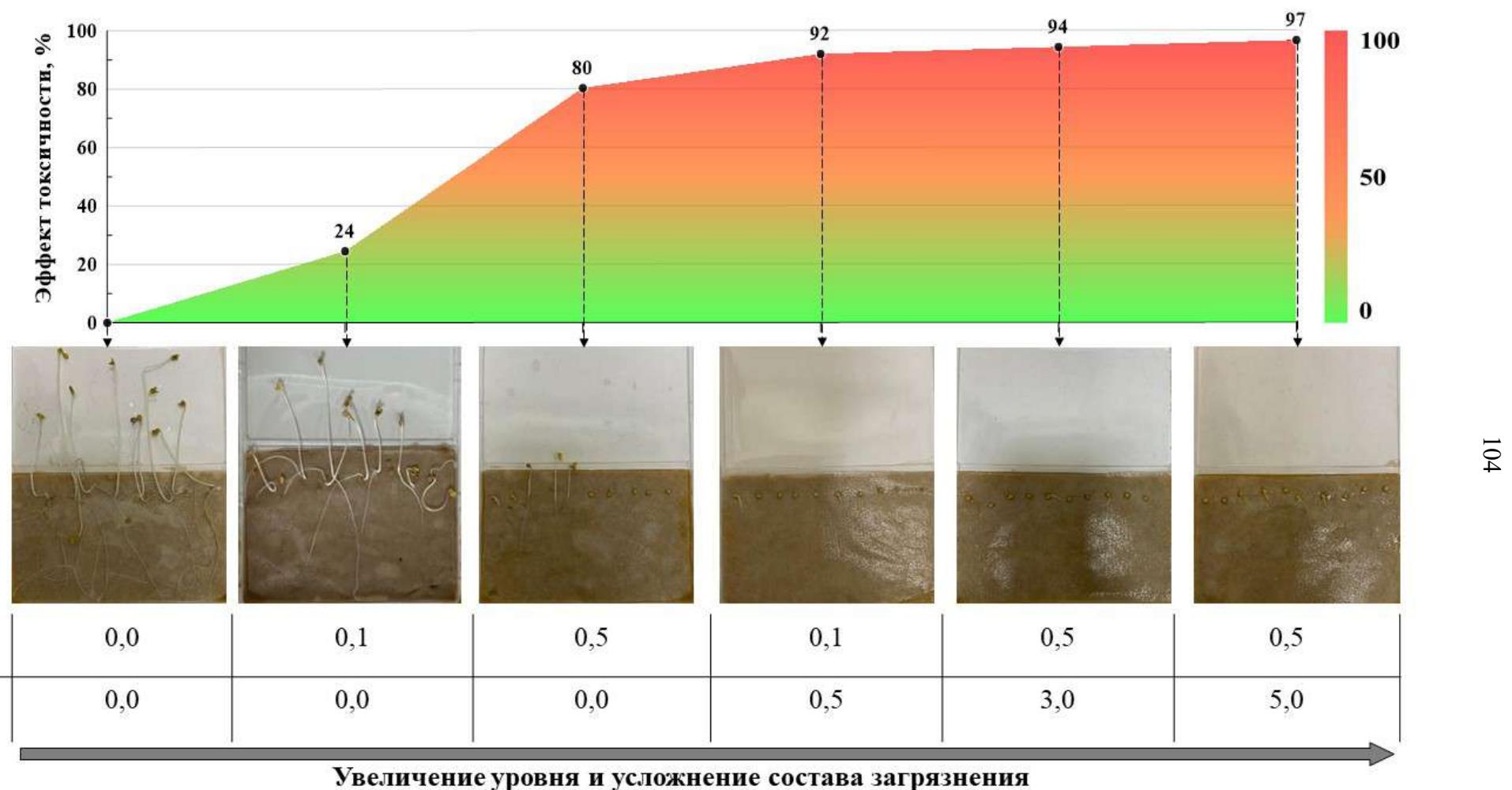


Рисунок 43. Результаты определения биологической значимости одиночного и комбинированного загрязнений песчаного грунта планшетным аппликатным фитотестированием (*ДТ – дизельное топливо)

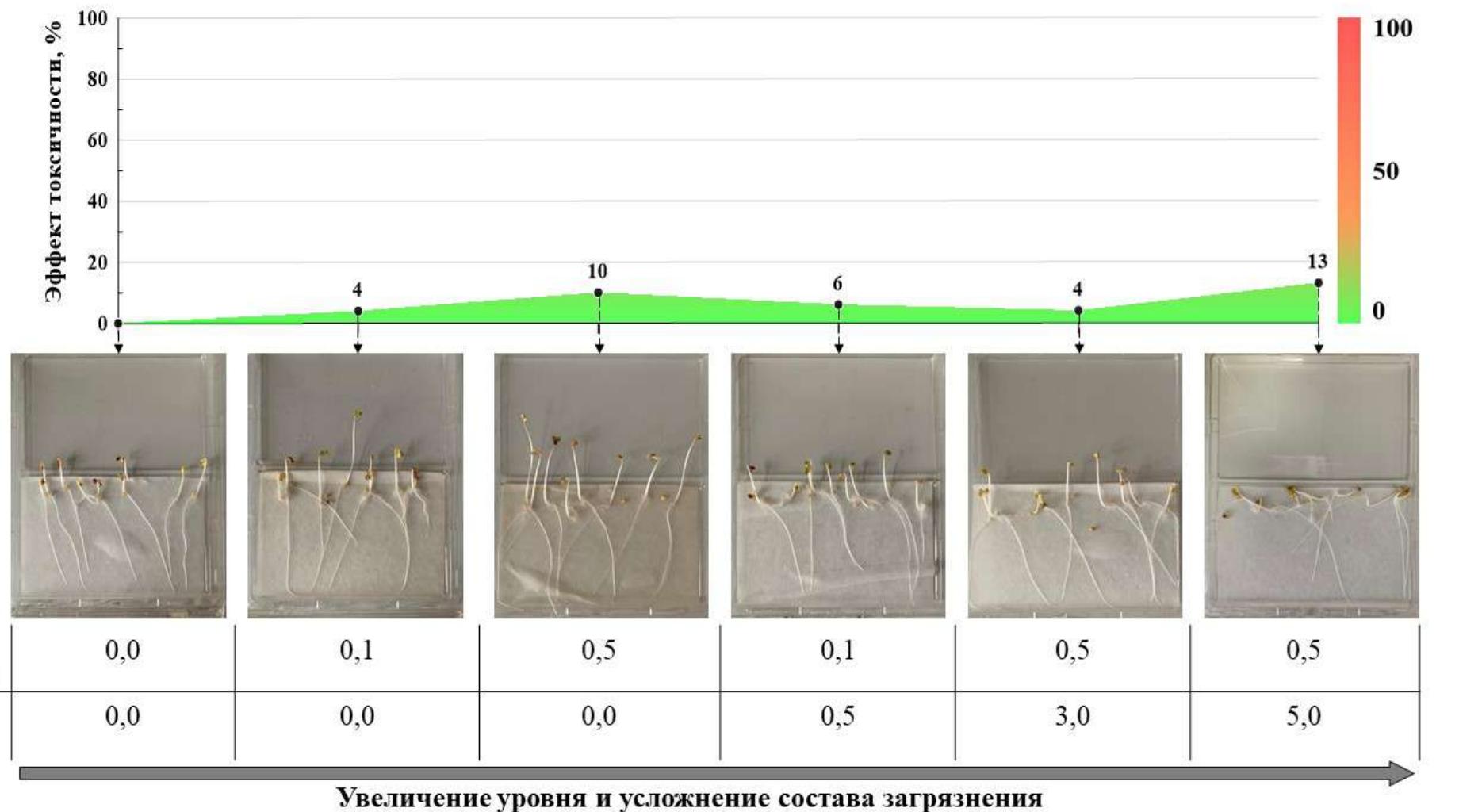


Рисунок 44. Результаты определения биологической значимости одиночного и комбинированного загрязнений песчаного грунта планшетным элюатным фитотестированием (*ДТ – дизельное топливо)

Таким образом, весь объем проведенных экспериментальных исследований включал в себя создание моделей одиночно и комплексно загрязненных песчаных грунтов, определение показателей их физических свойств, минерального и химического составов. Отдельный блок диссертационной работы был посвящен оценке влажностных характеристик и активности влаги в полученных грунтовых системах. Основным этапом являлось проведение экотоксикологических исследований, включающих в себя планшетное фитотестирование и оценку показателей биотических свойств на различных этапах вегетационного эксперимента. Можно сделать вывод о том, что при диагностике экологического состояния песчаного грунта и оценке биологической значимости уровня и состава его загрязнения необходимо применять именно аппликатный метод планшетного фитотестирования, при котором в качестве субстрата используется непосредственно сам грунт. В рамках проведения аппликатного и элюатного планшетного фитотестирования было высажено в песчаный грунт 8500 семян горчицы белой (*Sinapis a.*) и сорго сахарного (*Sorghum s.*), проведено 850 экспериментов по фитотестированию, а также измерено и статистически обработано более 17000 исследуемых тест-параметров.

Выводы к главе 6

1. При диагностике экологического состояния песчаных грунтов и оценке биологической значимости уровня и состава загрязнения необходимо применять именно аппликатный метод планшетного фитотестирования, при котором в качестве субстрата используется непосредственно сам модельный грунт.

Глава 7. Результаты экспериментальных исследований взаимодействия компонентов системы «загрязненный песчаный грунт – растение»¹³

В рамках проведения экспериментальных исследований взаимодействия компонентов системы «загрязненный песчаный грунт – растение» были получены данные об изменении влажностных характеристик используемых грунтовых моделей при проведении фитотестирования. Определялись такие показатели как: влажность максимальной молекулярной влагоемкости (W_{mmc}), влажность песчаных грунтовых систем до и после проведения вегетационного эксперимента. Также для получения представления о динамике изменения показателей биотических свойств были получены результаты по определению общей численности микроорганизмов и активности ферментов: дигидрогеназы, пероксидазы и уреазы на различных этапах проведения эксперимента.

В ходе проведения основного этапа исследований – аппликатного планшетного фитотестирования, все полученные данные по измерению и оценке тест-параметров заносились в лабораторный журнал (Приложение 2). Заключительным этапом являлась статистическая обработка полученных значений исследуемых морфометрических показателей используемых тест-культур: горчицы белой (*Sinapis a.*) и сорго сахарного (*Sorghum s.*) с применением дисперсионного анализа ANOVA (Приложение 4).

7.1. Изменение влажностных характеристик исследуемых грунтовых моделей при проведении фитотестирования

Как было показано в главе 1.2, критическим уровнем влаги в песчаной грунтовой системе, при котором сохраняется возможность роста и развития высших растений, является влажность W_{mmc} . В связи с этим в ходе экспериментальных исследований методом влагоемких сред была произведена оценка данного показателя как для исходных песчаных грунтов, так и для приготовленных моделей с различным уровнем загрязнения.

Исходя из полученных величин для исходных (чистых) песчаных грунтов, можно отметить, что наибольшим значением (4 %) обладает мелкий однородный песок, отобранный на территории «Усть-Балыкского» месторождения, наименьшее значение (2 %) соответствует песку средней крупности, отобранному на территории месторождения «Гора Хрустальная» (глава 5.1, таблица 2). В целом, зависимость снижения показателя W_{mmc} соответствует

¹³ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные в соавторстве, в которых отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Морозов, А. В. Особенности реакции высших растений на углеводородное загрязнение песчаного грунта при фитотестировании / А. В. Морозов, И. Ю. Григорьева, М. А. Гладченко // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2025. – № 3. – С. 38-47.

увеличению среднего размера зерен песчаных грунтов, который определяется их гранулометрическим составом.

Внесение в песчаную грунтовую систему раствора хлорида натрия не оказывает значимого влияния на данную влажностную характеристику (W_{mmc} контроль ($NaCl$ – 0 масс. %) = 2; 2; 3; 4 %; W_{mmc} ($NaCl$ – 0,5 масс. %) = 3; 3; 3; 4 % – соответственно) (рисунок 45), так как данный тип загрязняющего вещества в пределах используемых концентраций не влияет на структуру порового пространства в песках. Напротив, внесение дизельного топлива приводит к увеличению значения данного показателя для всех исследуемых песчаных грунтов: W_{mmc} (ДТ – 0 масс. %) = 2; 2; 3; 4 %; W_{mmc} (ДТ – 7 масс. %) = 3; 4; 4; 6 % – соответственно (рисунок 46), причем наблюдается линейная зависимость увеличения W_{mmc} от концентрации дизельного топлива, что может быть связано с процессом адсорбции компонентов углеводородного загрязнения на поверхности кварцевых зерен. При комбинированном загрязнении песчаной грунтовой системы, наблюдается тенденция аналогичная одиночному углеводородному, причем концентрация вносимого раствора хлорида натрия не оказывает значимого влияния на показатель влажности максимальной молекулярной влагоемкости (рисунок 47).

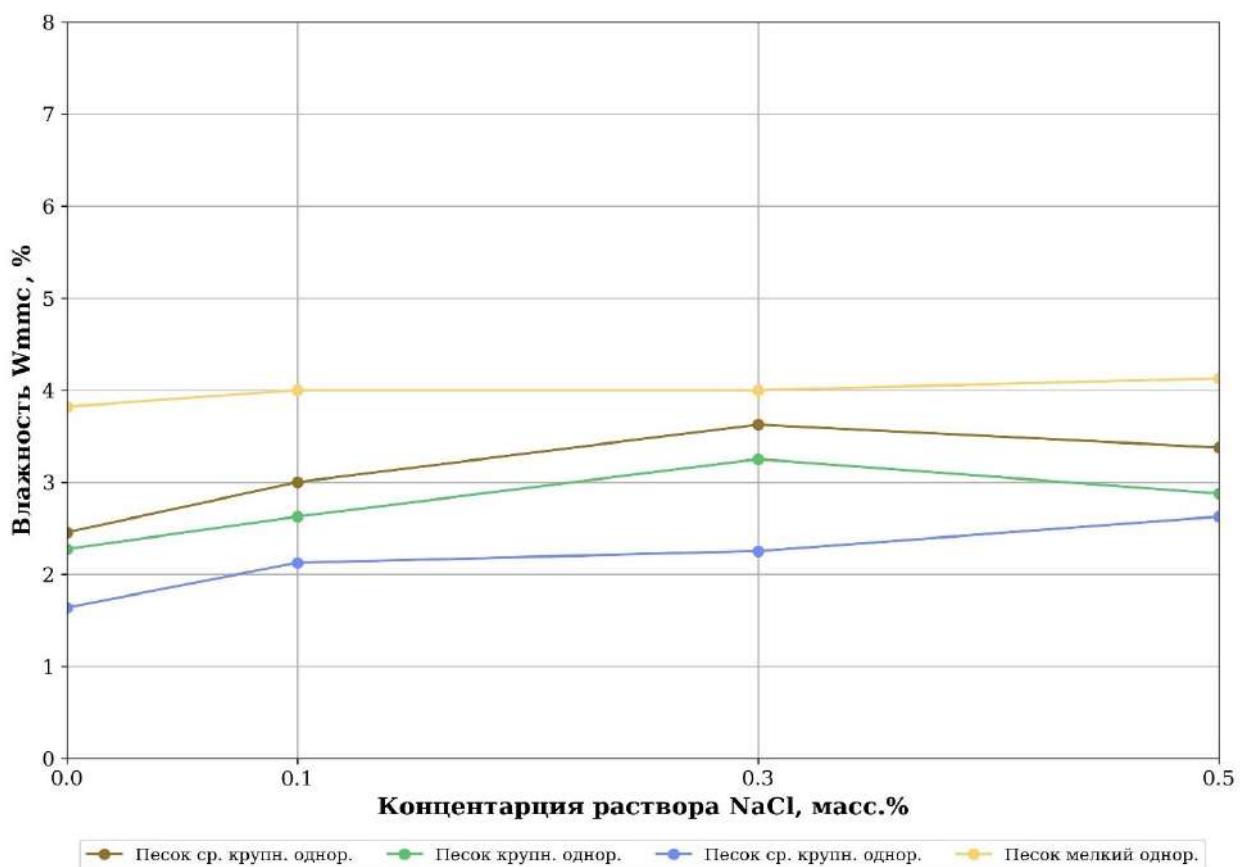


Рисунок 45. Зависимость влажности W_{mmc} исследуемых песчаных грунтов от концентрации раствора $NaCl$

Методические особенности проведения аппликатного планшетного фитотестирования, описанные в главе 6.4, предполагают определение влажности исследуемых грунтовых субстратов до и после проведения вегетационного эксперимента с целью контроля испарения влаги и герметичности используемых планшетов (рисунки 48, 49, 50).

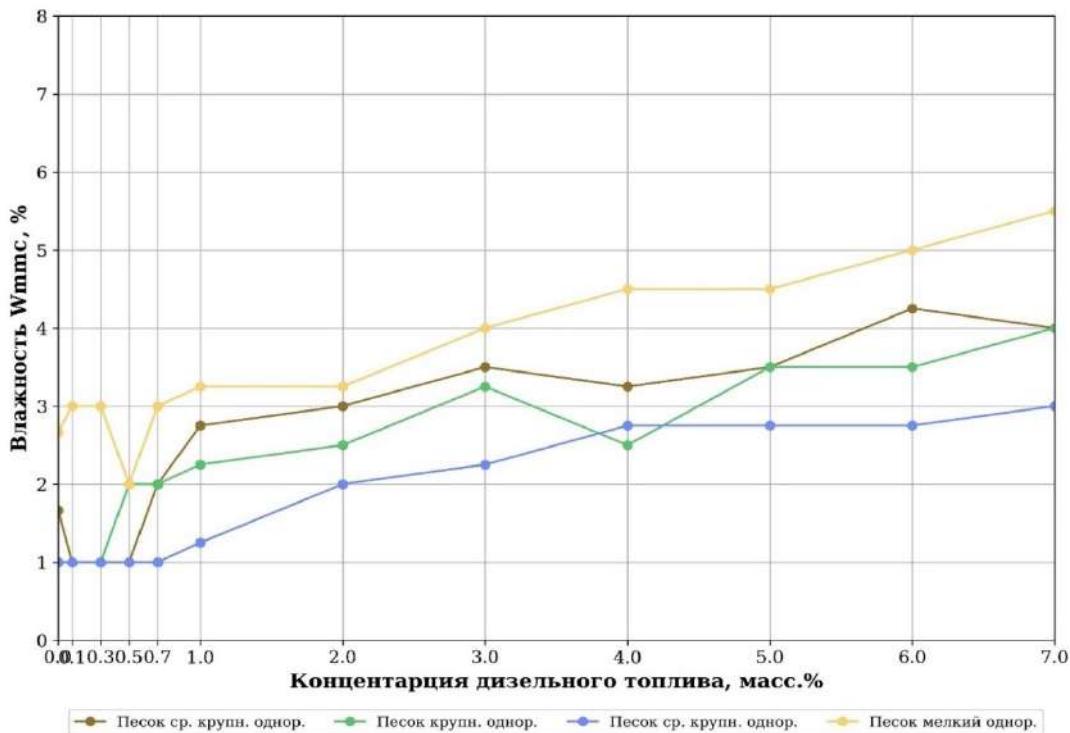


Рисунок 46. Зависимость влажности W_{mmc} исследуемых песчаных грунтов от концентрации дизельного топлива

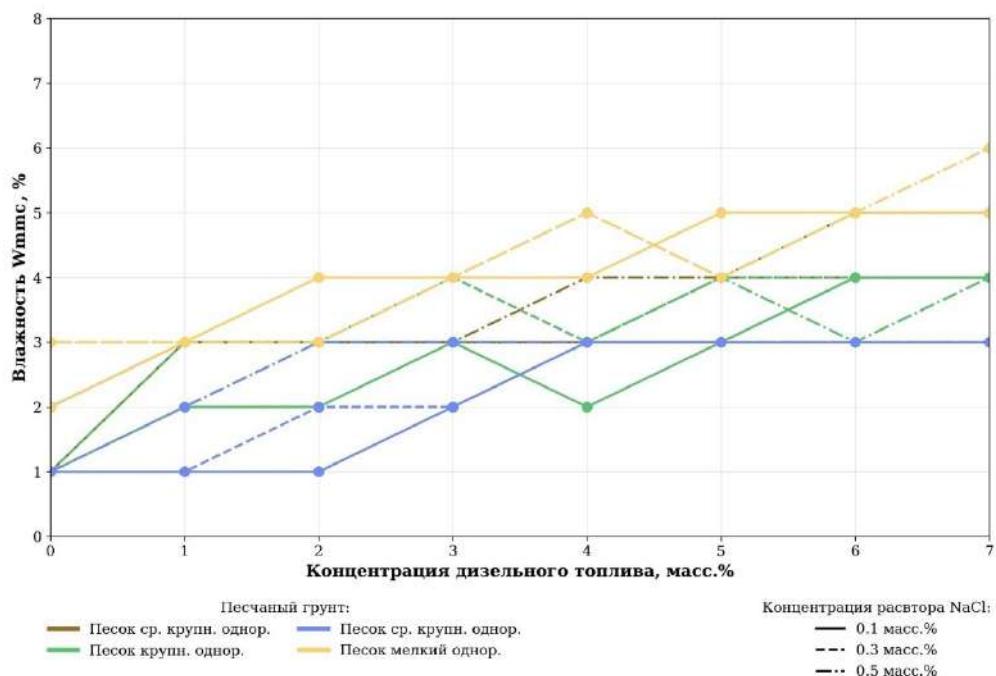


Рисунок 47. Зависимость влажности W_{mmc} исследуемых песчаных грунтов, загрязненных раствором $NaCl$, от концентрации дизельного топлива

По результатам определения влажности исследуемых моделей загрязненного песчаного грунта до и после проведения вегетационного эксперимента от содержания раствора хлорида натрия, можно отметить, что исходные значения, которые соответствуют 60 % от полной влагоемкости для всех четырех типов песков находятся в диапазоне 22 – 24 % (рисунок 48), незначительный разброс данного показателя определяется коэффициентом пористости. Диапазон изменения влажности песчаных грунтовых моделей до и после фитотестирования независимо от концентрации солевого загрязнения составил 1 – 2 %.

При одиночном углеводородном загрязнении исследуемых песчаных грунтов наблюдается противоположная ситуация в отношении показателя влажности до проведения вегетационного эксперимента (рисунок 49). В данном случае содержание летучих компонентов дизельного топлива будет влиять на значение влажности грунта, закономерно возрастающей при увеличении концентрации загрязнителя. Так, для песка средней крупности, отобранного на территории месторождения «Гора Хрустальная» влажность до фитотестирования при концентрации дизельного топлива 0,1 масс. % составила $W=22\%$, при концентрации – 7 масс. % – $W=24\%$. Однако, диапазон изменения влажности грунта до и после фитотестирования для всех концентраций углеводородного загрязнения составил от 2 до 5 %, что укладывается в диапазон допустимых значений.

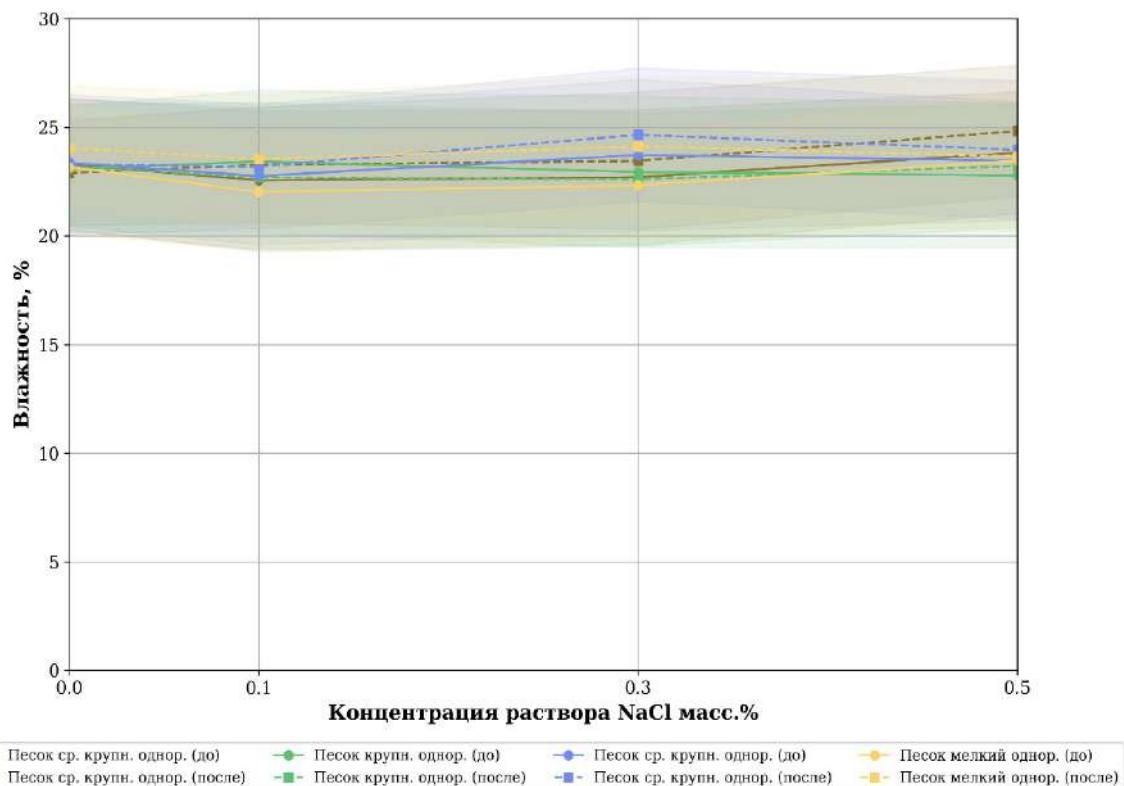


Рисунок 48. Зависимость влажности исследуемых песчаных грунтов до и после проведения фитотестирования от концентрации раствора NaCl (полупрозрачными областями показаны величины стандартного отклонения)

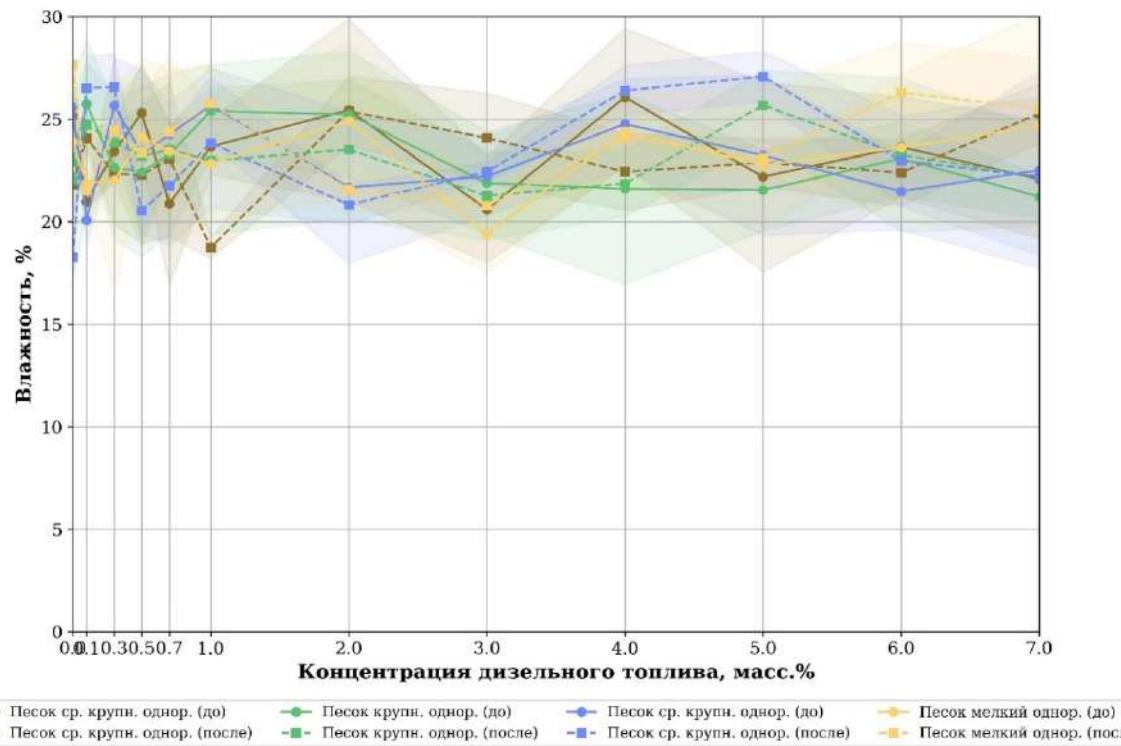


Рисунок 49. Зависимость влажности исследуемых песчаных грунтов до и после проведения фитотестирования от концентрации дизельного топлива (полупрозрачными областями показаны величины стандартного отклонения)

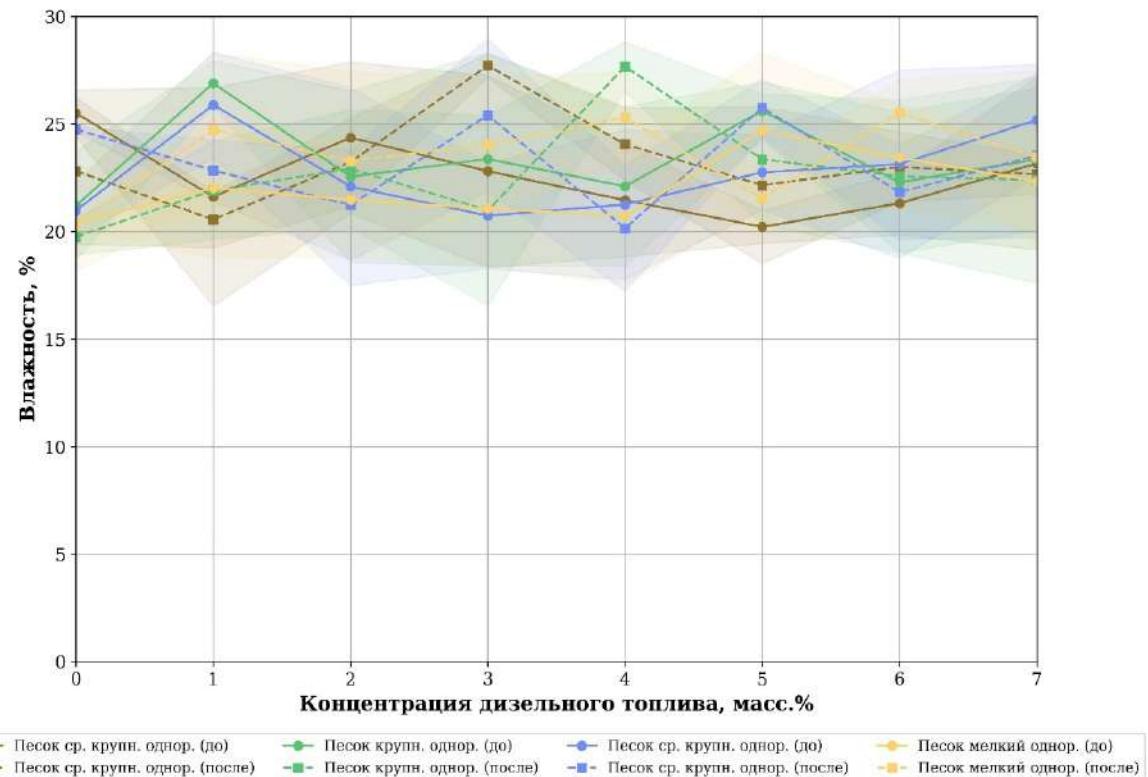


Рисунок 50. Зависимость влажности исследуемых песчаных грунтов с комбинированным загрязнением до и после проведения фитотестирования (полупрозрачными областями показаны величины стандартного отклонения)

Изменение влажности грунта при комбинированном загрязнении соответствует описанной выше закономерности для одиночного углеводородного загрязнения (рисунок 50). В ходе проведения вегетационного эксперимента данный показатель снижается на 2 – 5 % во всем ряду исследуемых концентраций.

Таким образом, увеличение содержания углеводородного загрязнения или усложнение его состава ведет к росту показателя максимальной молекулярной влагоемкости для исследуемых песчаных грунтов, который определяет достаточный уровень влаги для высших растений. По результатам контроля влажностных характеристик в ходе проведения эксперимента по фитотестированию было определено, что независимо от начальной влажности, уровня и характера загрязнения, а также биомассы проросших семян тест-культур, изменения влажности находятся в диапазоне 1 – 5 %, который соответствует допустимой погрешности измерения. Полученный результат подтверждает наличие идентичных условий прорастания семян используемых тест-культур, а также отсутствие испарения влаги в ходе проведения вегетационного эксперимента.

7.2. Результаты фитотестирования и определения показателей биотических свойств загрязненных песчаных грунтов и их анализ

В рамках исследования закономерностей взаимодействия компонентов в системе «загрязненный песчаный грунт – растение» было проведено 850 планшетных фитотестов подготовленных моделей загрязненных песков, высажено более 8500 семян используемых тест-культур, и получено 17000 единичных значений тест-параметров. По результатам статистической обработки полученного массива данных были построены сводные диаграммы и графики.

С целью изучения интенсивности протекания и направленности биологических процессов в исследуемой системе проведено определение активности ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы, а также общей численности микроорганизмов. Комплексный анализ результатов оценки острого токсического эффекта и показателей биотических свойств исследуемых песчаных грунтов позволяет наиболее полно оценить особенности взаимодействия компонентов в рассматриваемой системе.

Результаты фитотестирования солевого загрязнения песчаной грунтовой системы. По результатам оценки влияния одиночного хлоридно-натриевого загрязнения песчаной грунтовой системы на морфометрические показатели (длина корня, длина ростка, всхожесть) используемых тест-культур (рисунок 51) можно отметить закономерное снижение значений данных параметров

при увеличении концентрации поваренной соли. Однако, при использовании горчицы белой (*Sinapis a.*) значимая биологическая реакция тест-культуры на токсическое воздействие возникает при концентрации раствора $NaCl$ 0,3 масс. %, напротив для сорго сахарного (*Sorghum s.*) значимое снижение оцениваемых показателей отмечается уже при концентрации соли 0,1 масс. %. Также более высокую чувствительность сорго сахарного к токсическому воздействию солевого загрязнения песчаной грунтовой системы отражают результаты построения кривых «доза-эффект» и определения показателя LC50 (концентрация загрязнителя, при которой наблюдается «смерть» 50 % исследуемых живых организмов) (рисунок 52). Так, при оценке токсического эффекта по отношению к показателю длина корня для сорго сахарного значение LC50 составило 0,09 %, а для горчицы белой – 0,16 %. Таким образом, можно сделать вывод, что двудольная культура горчица белая является более устойчивой к токсическому воздействию хлоридно-натриевого загрязнения песчаной грунтовой системы.

По результатам определения значений показателей биотических свойств засоленных песчаных грунтов (рисунок 51) можно отметить, что изменение количества активных микробных сообществ, оцененное по общей численности микроорганизмов, не находится в прямой зависимости от увеличения концентрации загрязнителя.

Также не наблюдается закономерность в изменении показателей активности определяемых ферментов во всем ряду исследуемых концентраций раствора $NaCl$. Стоит отметить, что для всех исследуемых грунтов, за исключением песка мелкого (aQ_{III}) отобранного на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, данные активности (уреаза, пероксидаза и дегидрогеназа) определяемые в водных вытяжках не характерны (показатели активностей ниже предела обнаружения). Значимые величины ферментативной активности, определенные в мелком песке (aQ_{III}), характеризуют наличие в исходном грунте сорбированных иммобилизованных ферментов. Закономерность изменения значений ферментативной активности при увеличении концентрации загрязнителя наблюдается только в отношении пероксидазы, которая характеризует интенсивность процесса окисления органических веществ. В песке средней крупности (J_{2-3}), отобранном на территории месторождения «Гора Хрустальная», были определены значимые показатели активности дегидрогеназы, ферmenta участвующего в процессах дегидрирования и окисления, что связано с наличием железистых включений и процессом их окисления при взаимодействии с водой.

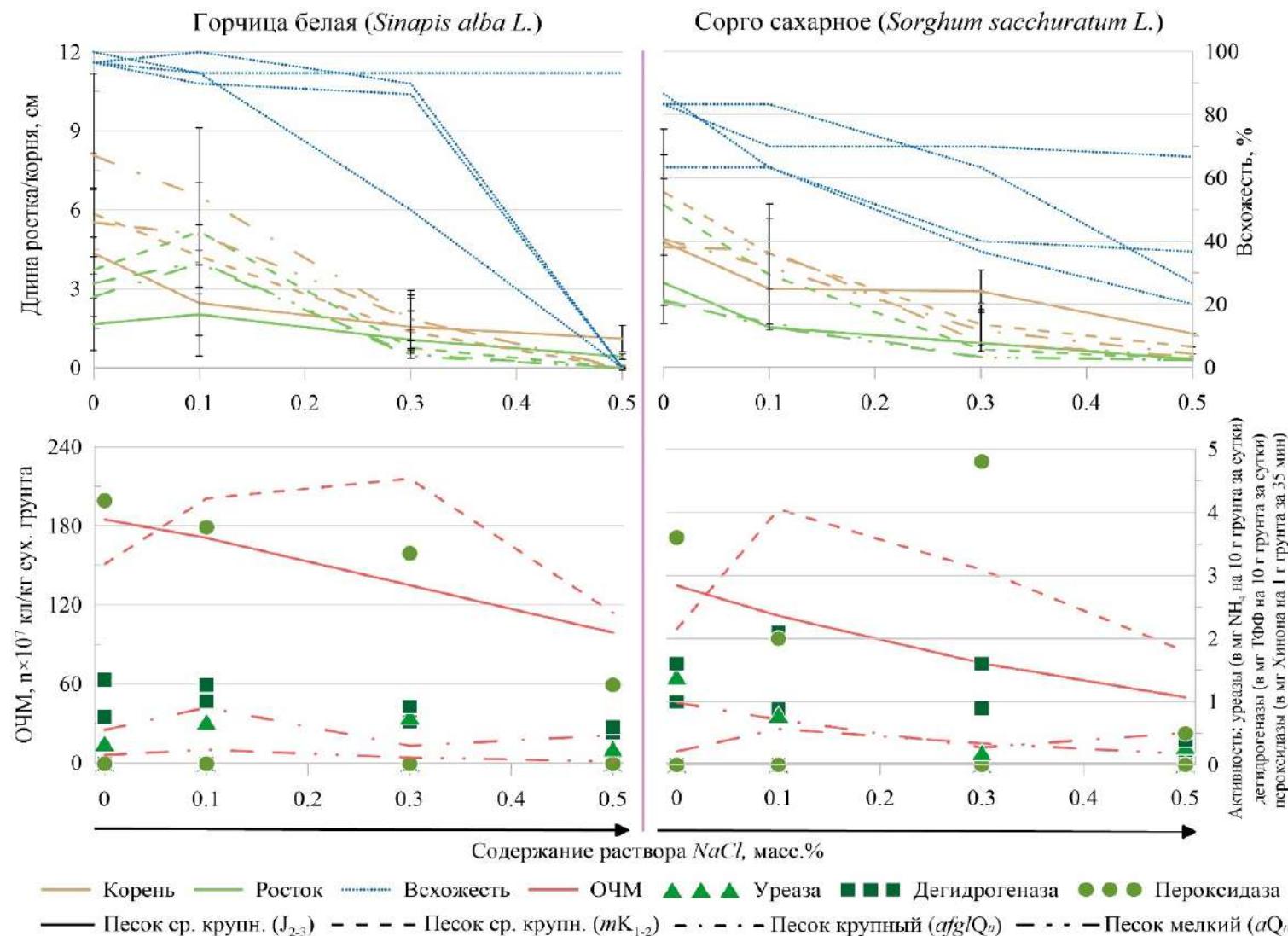


Рисунок 51. Результаты фитотестирования и определения показателей биотических свойств исследуемых песчаных грунтов при солевом загрязнении

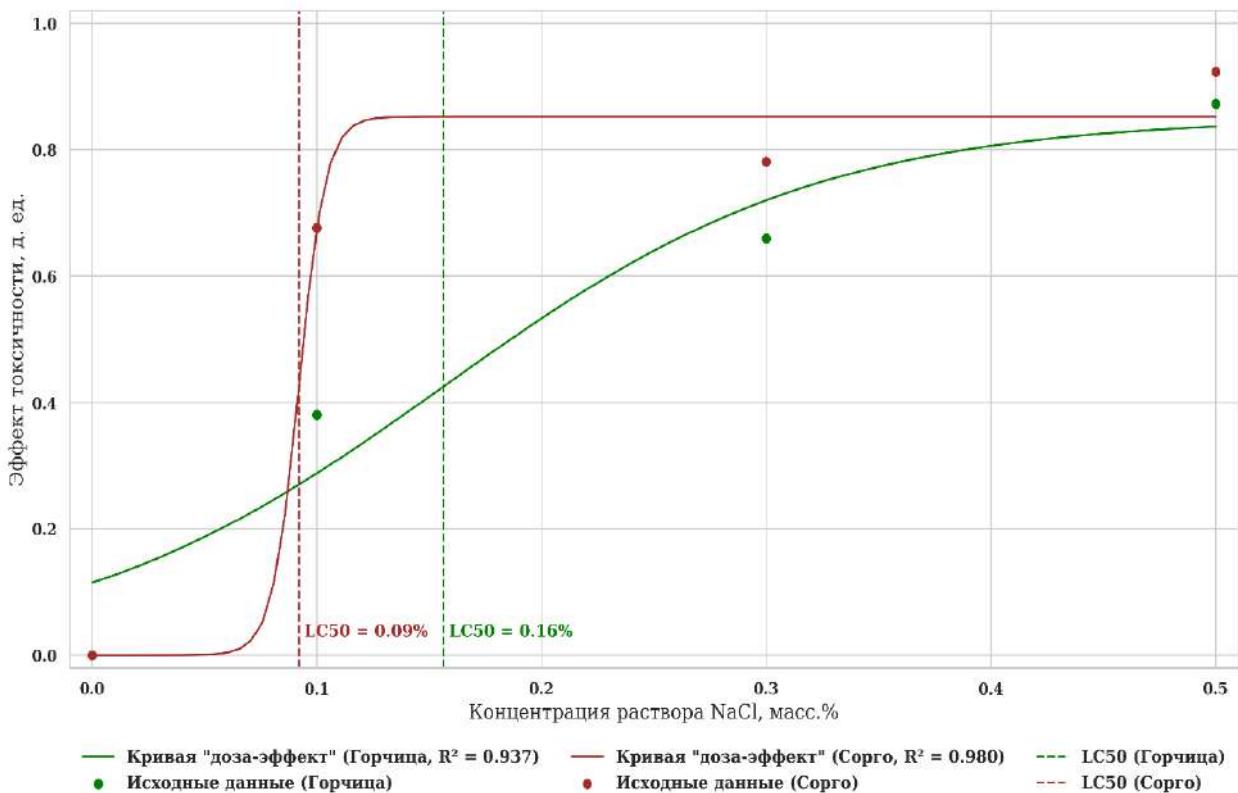


Рисунок 52. Усредненная кривая «доза-эффект» для солевого загрязнения исследуемых песчаных грунтов

Таким образом, одиночное хлоридно-натриевое загрязнение песчаной грунтовой системы оказывает биологически значимый токсический эффект по отношению к используемым тест-культурям: горчица белая (*Sinapis a.*) и сорго сахарное (*Sorghum s.*), при увеличении концентрации загрязнителя от 0,1 до 0,5 масс. %. Причем более устойчивой к солевому загрязнению является двудольное растение. По результатам количественного определения активных сообществ микроорганизмов в исследуемых загрязненных песчаных грунтах было определено, что значения данного показателя не зависят от концентрации раствора NaCl. Среди исследуемых песчаных грунтов только мелкий песок ($aQ_{ш}$), отобранный на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, характеризуется наличием в системе ферментов в подвижной форме, позволяющей им переходить в раствор водной вытяжки. Закономерность изменения значений определяемых ферментативных активностей от концентрации солевого загрязнения отсутствует.

Результаты фитотестирования углеводородного загрязнения песчаной грунтовой системы. Исходя из полученной зависимости значений определяемых морфометрических показателей и всхожести тест-культур горчицы белой и сорго сахарного от концентрации дизельного топлива в песчаном грунте (рисунок 53) можно сделать вывод о нелинейном

характере изменения биологических характеристик высших растений. Наиболее выраженным участком нелинейной реакции тест-культур является диапазон концентраций от 0,1 до 1,0 масс. % (область, выделенная красным пунктиром на рисунке 53). Так, можно отметить, что при начальном уровне содержания загрязнителя (от 0,1 до 0,3 масс. %, в зависимости от вида песчаного грунта) происходит снижение показателей исследуемых тест-параметров. Увеличение концентрации до 0,5 – 0,7 масс. % приводит к снижению токсического эффекта, а в случае песка мелкого (aQ_{IV}) (рисунок 53, г), отобранного на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, стимулирующему эффекту по отношению к показателю длины корня горчицы белой. Увеличение концентрации углеводородов в диапазоне от 1,0 до 7,0 масс. % приводит к закономерному снижению морфометрических показателей тест-культур, причем максимальный токсический эффект достигается при концентрации от 2,0 до 3,0 масс. %. При дальнейшем увеличении содержания дизельного топлива в исследуемой системе дополнительного биологически значимого токсического эффекта не наблюдается. Стоит отметить, что данные результаты фитотестирования были получены при использовании в качестве углеводородного загрязнения летнего дизельного топлива (см. глава 5.3, таблица 7).

По результатам оценки изменения численности сообществ микроорганизмов в песчаной грунтовой системе от концентрации дизельного топлива (рисунок 54) видно, что в диапазоне концентраций загрязнителя от 0,1 до 1,0 масс. % наблюдается нелинейная зависимость (область, выделенная синим пунктиром на рисунке 54). Так, увеличение содержания углеводородного загрязнения до 0,3 – 0,5 масс. % (в зависимости от исследуемого песчаного грунта) соответствует резкому увеличению численности активных сообществ, дальнейшее увеличение концентрации загрязнителя (до максимальной исследуемой – 7 масс. %) приводит к закономерному снижению данного показателя. Определенные показатели активности ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы также, как и в случае одиночного солевого загрязнения (рисунок 53), характерны только для мелкого песка (aQ_{IV}), причем их закономерное изменение при увеличении концентрации загрязнения отсутствует. Однако, стоит отметить, что максимальные значения активностей ферментов закономерным образом соответствуют «пику» активности сообществ микроорганизмов.

Таким образом, биологическая реакция используемых высших растений на содержание дизельного топлива в песчаном грунте носит нелинейный характер. В диапазоне концентраций от 0,5 до 0,7 масс. % наблюдается резкое снижение токсического эффекта, в случае песка мелкого (aQ_{IV}) отмечен эффект стимуляции. Показатель общей численности микроорганизмов также нелинейно изменяется в диапазоне концентраций загрязнителя от 0,1 до 1,0 масс. %, максимальное значение соответствует содержанию дизельного топлива 0,3 – 0,5 масс. %.

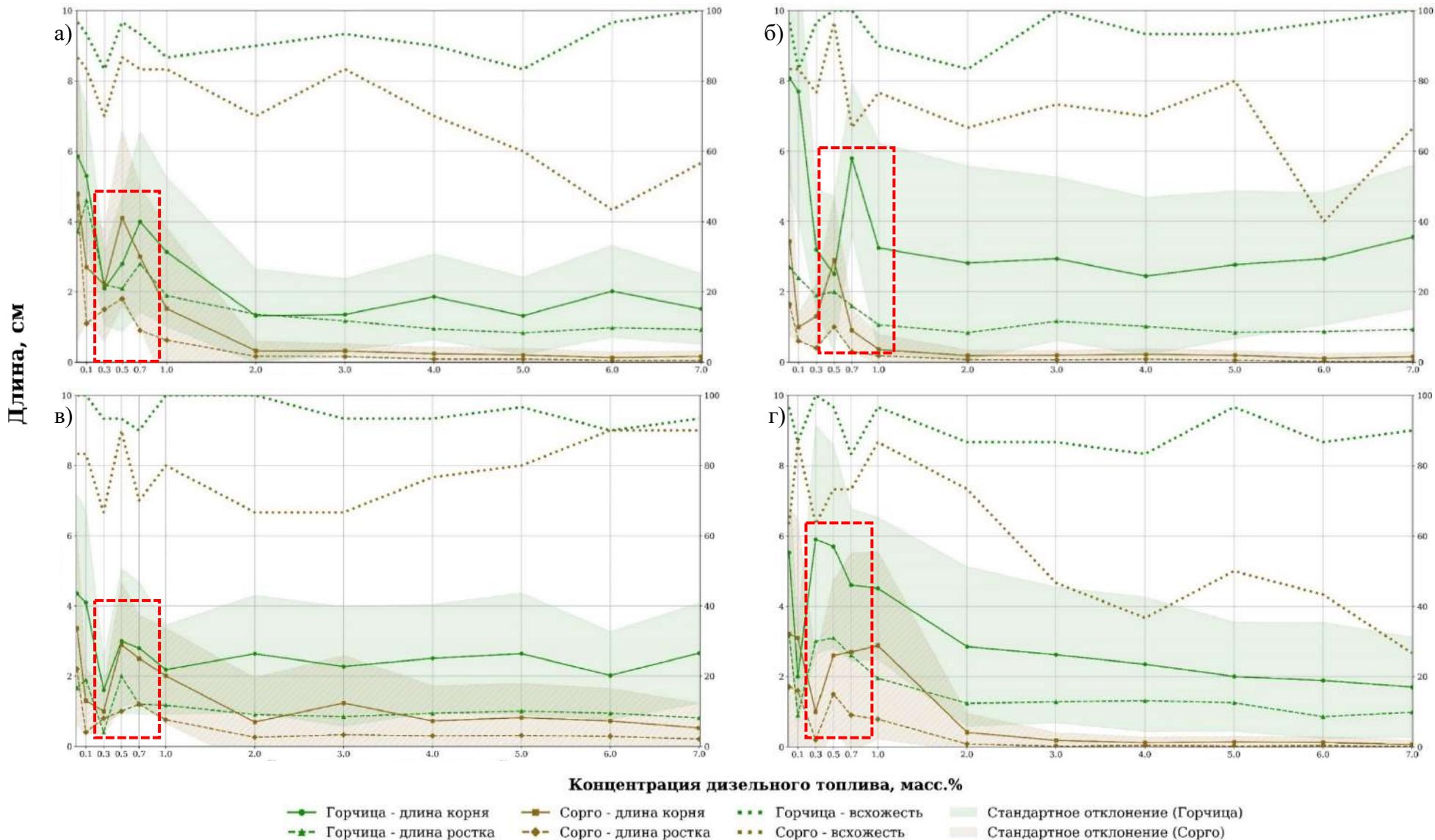


Рисунок 53. Зависимость значений исследуемых тест-параметров горчицы белой (*Sinapis a.*) и сорго сахарного (*Sorghum s.*) от концентрации дизельного топлива в песке: а) средней крупности (mK_{1-2}); б) крупном (afQ_{II}); в) средней крупности (J_{2-3}); г) мелком (aQ_{IV}) (пояснения см. в тексте)

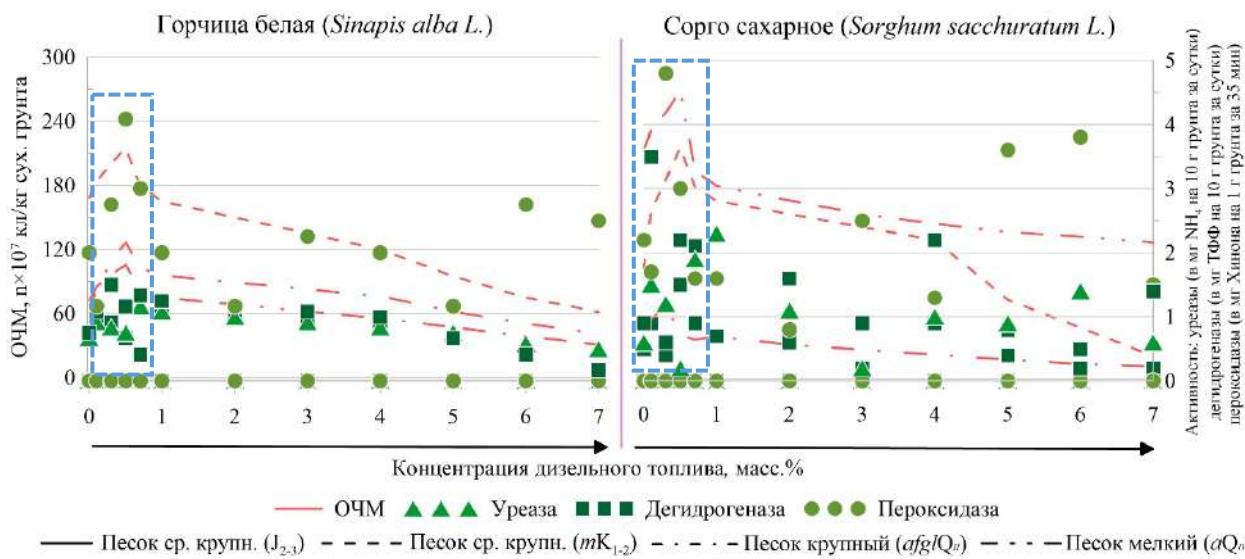


Рисунок 54. Зависимость значений показателей биотических свойств загрязненных песчаных грунтов от концентрации дизельного топлива (пояснения см. в тексте)

Результаты фитотестирования комбинированного загрязнения песчаной грунтовой системы. Усложнение состава загрязнения путем внесения в песчаную грунтовую систему дизельного топлива и раствора хлорида натрия во всем ряду исследуемых концентраций оказывает значительный токсический эффект на используемые тест-культуры. Для интерпретации результатов фитотестирования комбинированного загрязнения песчаной грунтовой системы было рассчитано среднее значение эффекта токсичности по отношению к тест-параметру – «длина корня». Стоит отметить, что как нормативными документами¹⁴, так и результатами предыдущих исследований [52] подобные приемы допустимы и позволяют упростить анализ полученного массива данных.

Исходя из полученных зависимостей изменения эффекта токсичности от содержания загрязняющих веществ, построенных методом кубической интерполяции (значения ЭТ, превышающие 100 % являются следствием применения данного метода, в этом случае стоит принимать, что ЭТ=100 %) (рисунок 55), можно сделать вывод, что независимо от используемого песка комбинированное загрязнение приводит к резкому увеличению токсического эффекта. Определенные выше закономерности влияния одиночного углеводородного загрязнения (снижение токсического эффекта в диапазоне концентрация 0,5 – 0,7 масс. %) не наблюдаются при добавлении раствора хлорида натрия в качестве загрязнителя, даже в случае минимальной исследуемой концентрации 0,1 масс. %. Наиболее острый токсический эффект (>80 %) во всем

¹⁴ ГОСТ Р ИСО 18763–2019. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадиях развития высших растений // М.: Стандартинформ, 2019, 27 с.

ряду концентраций дизельного топлива соответствует содержанию солевого загрязнения 0,3 – 0,5 масс. %.

Как было показано ранее одиночное солевое загрязнение песчаного грунта в концентрации 0,1 масс. % не оказывает биологически значимого токсического эффекта на исследуемые культуры высших растений. Однако, при наличии в грунтовой системе углеводородного загрязнения, добавление раствора хлорида натрия будет приводить к резкому увеличению токсического эффекта по отношению к исследуемым тест-культурям высших растений.

По результатам определения показателей ОЧМ и активности исследуемых ферментов (рисунок 55), можно сделать вывод о их закономерном снижении при увеличении содержания раствора хлорида натрия от 0,1 до 0,5 масс. % во всем ряду исследуемых концентраций дизельного топлива.

В случае минимальной концентрации солевого загрязнения (рисунок 56, а) наблюдается увеличение численности активных микробных сообществ в диапазоне концентраций от 0,3 до 0,5 масс. %, при этом аналогичным образом изменяются значения показателей ферментативных активностей. При увеличении концентрации солевого загрязнения (рисунок 56, б, в) можно отметить значительное снижение значений исследуемых показателей. Комбинированное загрязнение песчаной грунтовой системы дизельным топливом и раствором *NaCl* в концентрации 0,5 масс. % приводит к практически полному подавлению активности жизнедеятельности микробных сообществ и, соответственно, отсутствию в грунтовой системе активных форм исследуемых ферментов.

*Таким образом, комбинированное загрязнение песчаной грунтовой системы вызывает острый токсический эффект в отношении тест-культур горчицы белой (*Sinapis a.*) и сорго сахарного (*Sorghum s.*) во всем ряду исследуемых концентраций. Добавление в грунтовую систему, содержащую углеводороды, раствора хлорида натрия в минимальной исследуемой концентрации (0,1 масс. %) приводит к увеличению токсического эффекта и отсутствию закономерностей реакции высших растений, наблюдавшихся при одиночном углеводородном загрязнении. Увеличение концентрации хлоридно-натриевого загрязнения, при условии наличия в грунтовой системе дизельного топлива, приводит к значительному снижению количества активных микробных сообществ и активности ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы.*

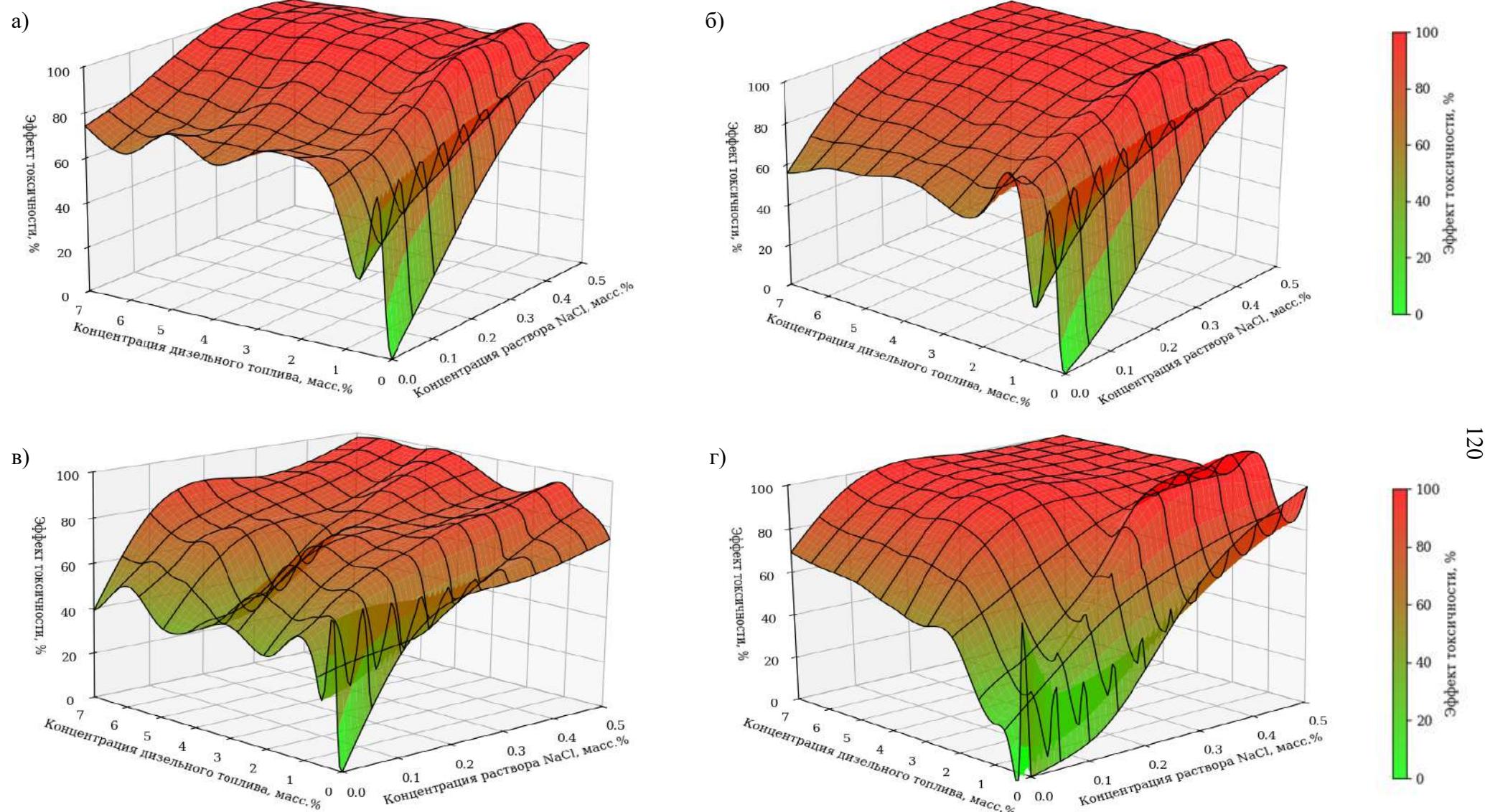


Рисунок 55. Зависимость средних значений эффекта токсичности по отношению к тест-культурям от концентрации веществ-загрязнителей в песке: а) средней крупности (mK_{1-2}); б) крупном (aQ_{II}); в) средней крупности (J_{2-3}); г) мелком (aQ_{IV})

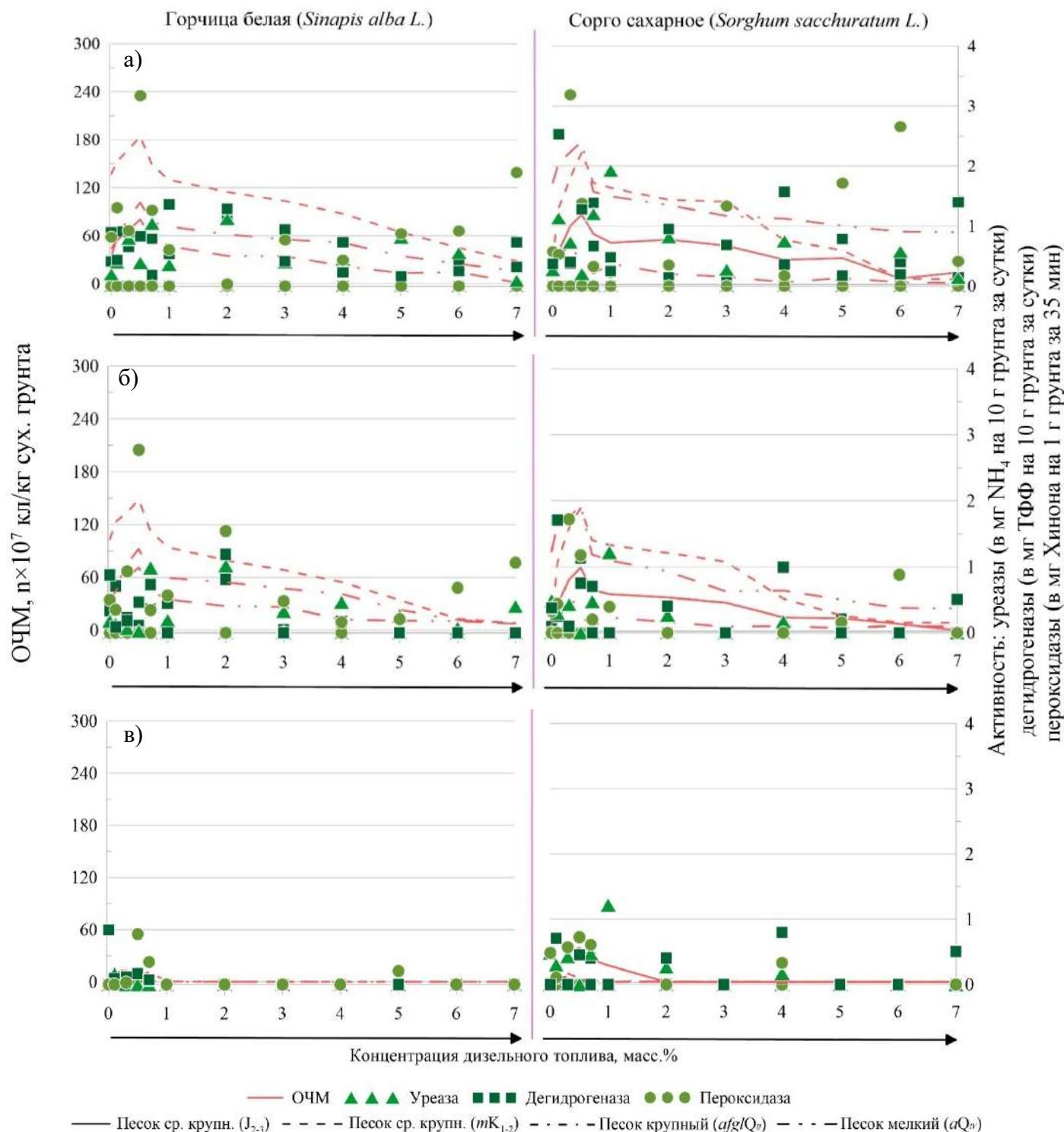


Рисунок 56. Зависимость значений показателей биотических свойств загрязненных песчаных грунтов от концентрации дизельного топлива и раствора хлорида натрия (масс. %):
 а) 0,1; б) 0,3; в) 0,5

Выводы к главе 7

- Одиночное хлоридно-натриевое загрязнение песчаной грунтовой системы оказывает биологически значимый токсический эффект по отношению к используемым тест-культурам

горчице белой и сорго сахарному при увеличении концентрации загрязнителя от 0,1 до 0,5 масс. %. Причем более устойчивой к солевому загрязнению является двудольное растение. По результатам количественного определения активных сообществ микроорганизмов в исследуемых загрязненных песчаных грунтах было определено, что значения данного показателя не зависят от концентрации раствора $NaCl$. Среди исследуемых песчаных грунтов только мелкий песок (aQ_{III}), отобранный на территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения, характеризуется наличием в системе ферментов в подвижной форме, позволяющей им переходить в раствор водной вытяжки. Закономерность изменения значений определяемых ферментативных активностей от концентрации солевого загрязнения отсутствует.

2. Биологическая реакция используемых высших растений горчицы белой и сорго сахарного на содержание дизельного топлива в песчаном грунте носит нелинейный характер. В диапазоне концентраций от 0,5 до 0,7 масс. % наблюдается резкое снижение токсического эффекта, а в случае песка мелкого (aQ_{IV}) отмечен эффект стимуляции развития корня двудольной тест-культуры, по сравнению с контрольным образцом. Показатель общей численности микроорганизмов также нелинейно изменяется в диапазоне концентраций загрязнителя от 0,1 до 1,0 масс. %, максимальное значение соответствует содержанию дизельного топлива от 0,3 до 0,5 масс. %.

3. Комбинированное загрязнение песчаной грунтовой системы вызывает острый токсический эффект в отношении тест-культур горчицы белой и сорго сахарного во всем ряду исследуемых концентраций. Добавление в грунтовую систему, содержащую углеводороды, раствора хлорида натрия в минимальной исследуемой концентрации (0,1 масс. %) приводит к увеличению токсического эффекта и отсутствию закономерностей реакции высших растений, наблюдавшихся при одиночном углеводородном загрязнении. Увеличение концентрации хлоридно-натриевого загрязнения при условии наличия в грунтовой системе дизельного топлива приводит к значительному снижению количества активных микробных сообществ и активности ферментов: уреазы, дегидрогеназы и пероксидазы.

Глава 8. Закономерности функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при фитотестировании

Комплексный анализ механизма взаимодействия поверхности кварцевых зерен в песчаном грунте с веществами-загрязнителями, а также интерпретация результатов покомпонентного описания исследуемой системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при фитотестировании являются основанием для выявления закономерностей ее функционирования в случае солевого, углеводородного и комбинированного загрязнений.

Солевое загрязнение. Схематически закономерности функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при солевом загрязнении представлены на рисунке 57. Как было показано выше, при загрязнении грунта раствором хлорида натрия ($NaCl$) в жидкой фазе будут присутствовать гидратированные ионы хлора (Cl^-) и натрия (Na^+), причем их вовлеченность в химические и физико-химические процессы будет значительно отличаться. Так, ионы натрия, окруженные молекулами воды, способны вступать во взаимодействие с коллоидными частицами аморфного кремнезема, которые преимущественно располагаются на поверхности кварцевых зерен. Положительный заряд иона натрия способен нейтрализовать отрицательный заряд адсорбированного вблизи него гидроксил-иона, который в свою очередь определяет заряд на поверхности коллоидных частиц аморфного кремнезема, что в результате может приводить к преимущественному расположению ионов металла вблизи поверхности кварцевых зерен [19]. В свою очередь гидратированные ионы хлора, ввиду незначительной вовлеченности в процессы физико-химического взаимодействия с твердой компонентой грунтов, будут располагаться в жидкой фазе, что позволяет им контактировать с семенем используемой при фитотестировании тест-культуры.

Описанный в главе 7.2 острый токсический эффект, вызванный солевым загрязнением песчаной грунтовой системы, по отношению к семенам тест-культур высших растений горчицы белой (*Sinapis a.*) и сорго сахарного (*Sorghum s.*), предположительно будет связан именно с наличием в жидкой фазе гидратированных ионов хлора. В первую очередь, засоление будет приводить к возникновению явления осмотического стресса, в ходе которого снижается способность семян к адсорбции воды при набухании, что является критически важным на ранних стадиях развития. Также при взаимодействии ионов хлора с семенной оболочкой и защитной мембраной возможно нарушение ультраструктур клеток, что будет приводить к увеличению их проницаемости.

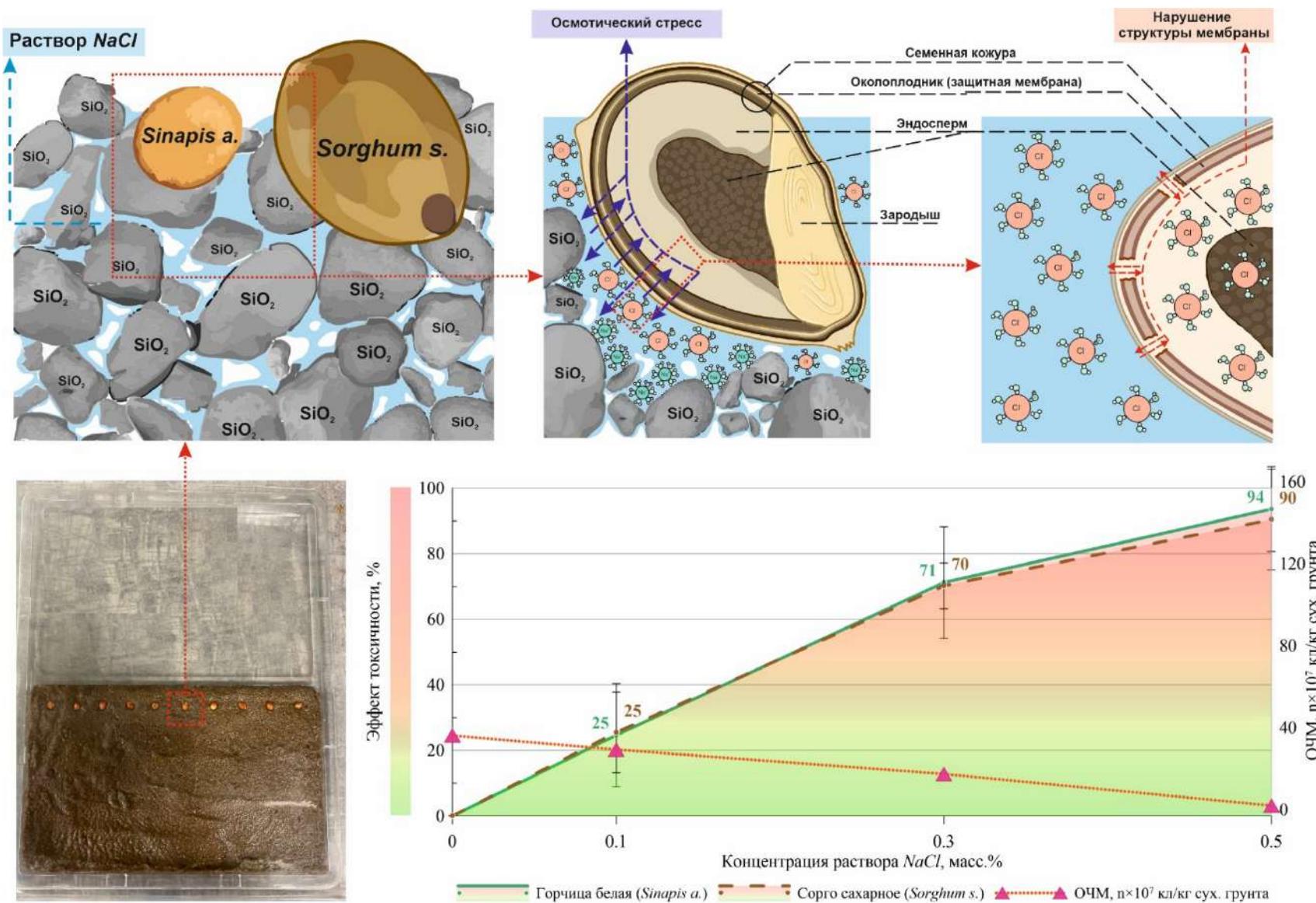


Рисунок 57. Функционирование системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при хлоридно-натриевом загрязнении

Также ион хлора может выступать в качестве специфического яда для используемых семян культур высших растений. В данном случае возможно подавление активности критически важных групп ферментов, функционирующих внутри семени, что приводит к угнетению прорастания и, соответственно, снижению показателей всхожести и морфометрических параметров, учитываемых при оценке эффекта токсичности по результатам фитотестирования. Увеличение концентрации хлоридно-натриевого загрязнения ведет к закономерному повышению токсического эффекта.

По результатам количественной оценки активных соединений микроорганизмов можно сделать вывод, что в случае солевого загрязнения песчаной грунтовой системы токсичные компоненты оказывают ингибирующее воздействие на интенсивность жизнедеятельности микроорганизмов, данный эффект усиливается при увеличении концентрации загрязнителя.

Углеводородное загрязнение. Схематически закономерности функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при углеводородном загрязнении представлены на рисунке 58. При внесении дизельного топлива в воздушно-сухой грунт наблюдается явление физической адсорбции полярных молекул на поверхности кремнезема, при этом дегидратированная поверхность кварцевых зерен способствует образованию водородных связей, и при увеличении молекулярной массы взаимодействующих с поверхностью органических соединений усиливается прочность их сорбции. Причем молекулярная масса компонентов углеводородного загрязнения, соответствующая длине CH цепочек, определяет их потенциал к сорбции на поверхности [19].

Методика проведения планшетного аппликатного фитотестирования предполагает увлажнение исследуемого субстрата до 60 % от полной влагоемкости. В данном случае в зависимости от концентрации загрязнения возможно формирование различных типов эмульсий в поровом пространстве грунтовой системы: при низких концентрациях, помимо сорбированных на поверхности кварцевых зерен компонентов углеводородов, в системе присутствуют прямые мицеллы, состоящие из неполярного ядра (компоненты УВ загрязнения) и поверхностного слоя из ориентированных к растворителю полярных групп; при увеличении концентрации дизельного топлива инициируется процесс формирования в отдельных участках обратных мицелл, образованных в неполярном растворителе (УВ загрязнение) и имеющих полярное ядро, состоящее из гидрофильных групп; дальнейшее повышение концентрации будет приводить к изменению соотношения прямых и обратных мицелл в пользу последних, наряду с увеличением толщины слоя сорбированных УВ компонентов загрязнителя.

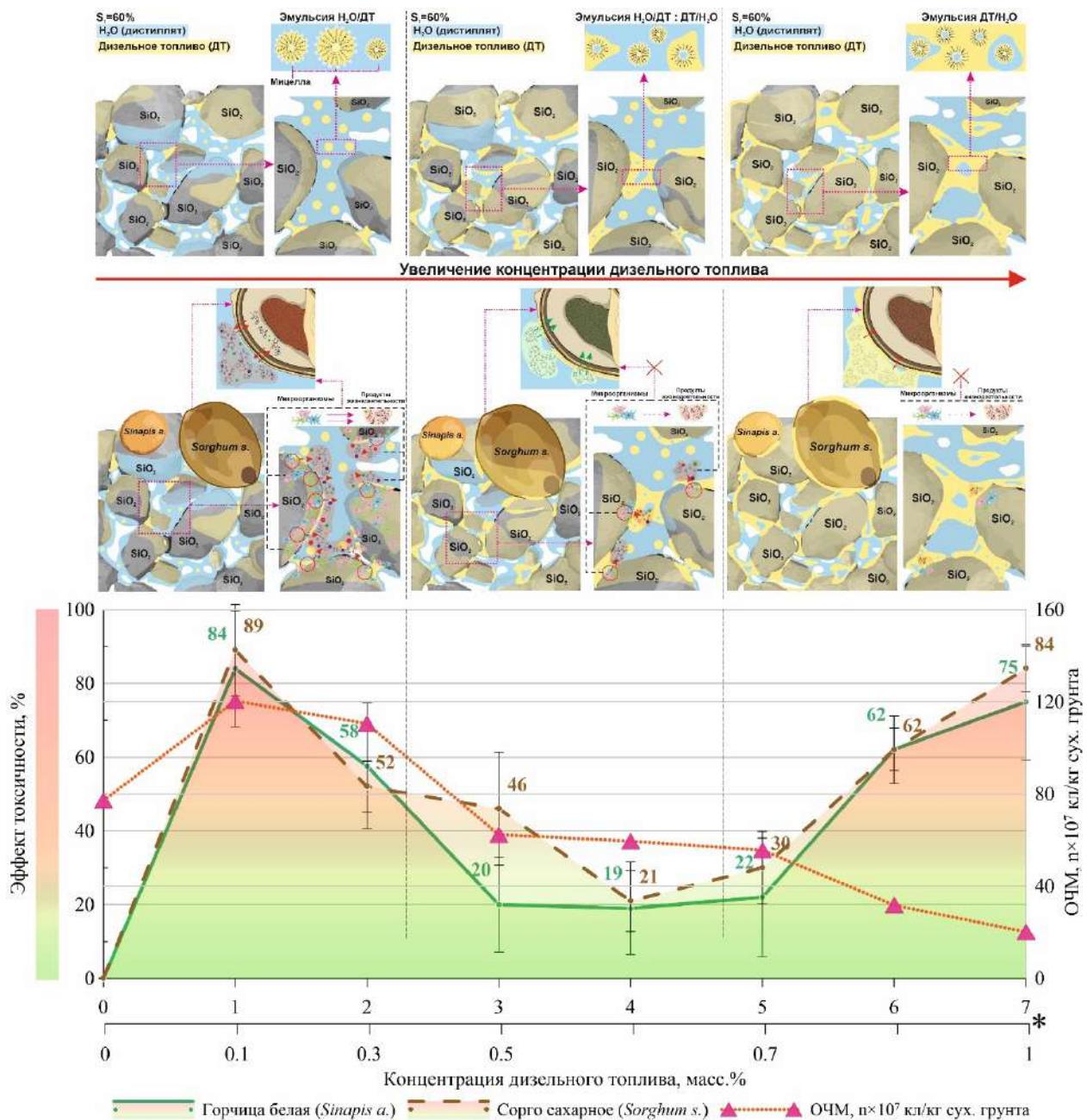


Рисунок 58. Функционирование системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при углеводородном загрязнении (*альтернативный вариант углеводородного загрязнения)

По результатам фитотестирования углеводородного загрязнения песчаного грунта был установлен нелинейный характер реакции используемых тест-культур высших растений на содержание нефтепродукта. При условии использования летнего дизельного топлива (глава 5.3, таблица 7), в диапазоне концентрации 0,5 – 0,7 масс. % наблюдалось снижение токсического эффекта, оказываемого на биологические показатели тест-культур, а также наличие эффекта стимуляции по отношению к показателю длины корня горчицы белой [52]. При использовании в качестве углеводородного загрязнения зимнего дизельного топлива (глава 5.3, таблица 7) был

определен диапазон концентраций 3 – 5 масс. %, при котором отмечалось аналогичное снижение токсического эффекта по отношению к используемому высшему растению.

Подобная реакция горчицы белой и сорго сахарного на содержание углеводородного загрязнения в песке может быть описана с базовых позиций концепции пределов толерантности, согласно которой лимитирующее влияние на интенсивность жизнедеятельности организмов может оказывать как недостаток, так и избыток какого-либо экологического фактора. Диапазон между этими двумя величинами будет соответствовать «пределу толерантности» (или пределу выносливости) (рисунок 59) [52].

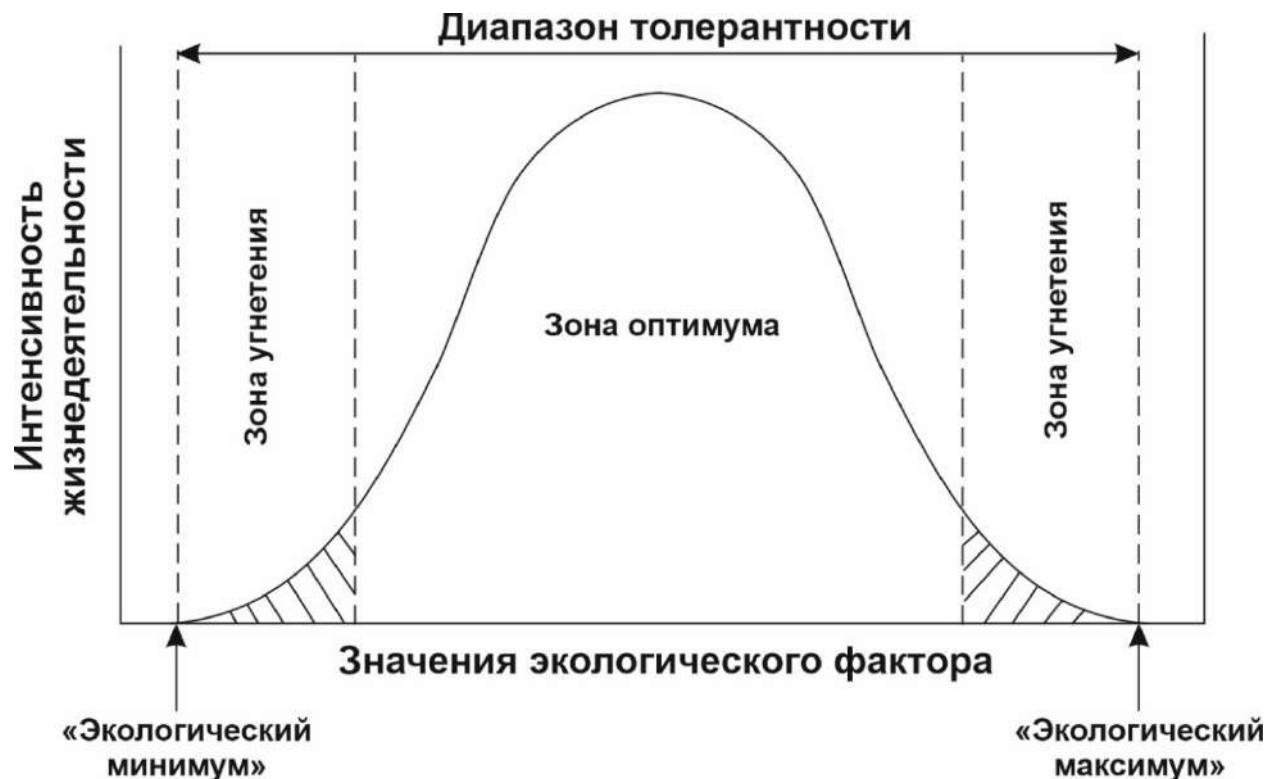


Рисунок 59. Общий характер зависимости влияния экологических факторов на организмы [60]

В проведенных исследованиях в качестве экологического фактора, ограничивающего жизнедеятельность высших растений, выступало содержание дизельного топлива. Диапазоны концентраций (0,5 – 0,7 и 3 – 5 масс. % в зависимости от вида ДТ) углеводородного загрязнения, в данном случае могут соответствовать «зоне оптимума» для горчицы белой и сорго сахарного, причем снижение или увеличение содержания приводит к угнетению роста и развития используемых для тестирования высших растений [52].

По результатам количественного определения активных соединений микроорганизмов в песчаном грунте, также был установлен нелинейный характер зависимости изменения показателей ОЧМ от концентрации углеводородного загрязнения. Так, при низких концентрация

дизельного топлива ($0,1 - 0,3$ и $1 - 2$ масс. %) наблюдается возрастание численности активных колоний микроорганизмов и, следовательно, повышение интенсивности их жизнедеятельности. Подобный эффект может быть связан с органической природой данного типа загрязнения. Незначительное содержание углеводородов в песчаном грунте может выступать в качестве питательной среды для имеющихся в системе сообществ микроорганизмов, ранее находившихся в инактивном состоянии. Рост жизнедеятельности приводит к накоплению условно патогенных веществ (продуктов метаболизма), которые негативным образомказываются на способности высших растений к росту и развитию, особенно на раннем (эмбриональном) этапе их развития. Данное предположение может объяснять полученные по результатам экспериментальных исследований низкие значения морфометрических показателей, а, соответственно, наличие биологически значимого токсического эффекта в отношении исследуемых тест-культур при низких содержаниях дизельного топлива [52].

Описанное выше значительное снижение токсического эффекта по отношению к исследуемым тест-культурам в диапазоне концентраций углеводородного загрязнения $0,5 - 0,7$ и $3 - 5$ масс. % совпадает со снижением общей численности микроорганизмов в образцах исследуемого грунта. Следовательно, можно сделать предположение о наличии лимитирующего эффекта концентрации углеводородного загрязнения по отношению к сообществам микроорганизмов, однако этот предел смешен в сторону более низких концентраций, в данном случае в область $0,1 - 0,3$ и $1 - 2$ масс. %, в зависимости от вида используемого загрязнителя [52].

Дальнейшее увеличение содержания углеводородного загрязнения (более 1 или 5 масс. % в зависимости от типа дизельного топлива) будет приводить к подавлению активности жизнедеятельности микробных сообществ, а также ингибированию роста и развития семян тест-культур высших растений, выражаящемуся в увеличении показателя токсичности. Формирующиеся в данном случае на поверхности семян массивные пленки компонентов УВ загрязнения, значительно увеличивают гидрофобность их поверхности и препятствуют развитию высших растений.

Комбинированное загрязнение. Схематически закономерности функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при комбинированном загрязнении представлены на рисунке 60. Внесение в песчаный грунт раствора хлорида натрия вместе с дизельным топливом приводит к возникновению взаимодействий как между двумя загрязняющими веществами, так и между поверхностью кварцевых зерен и загрязнителями.

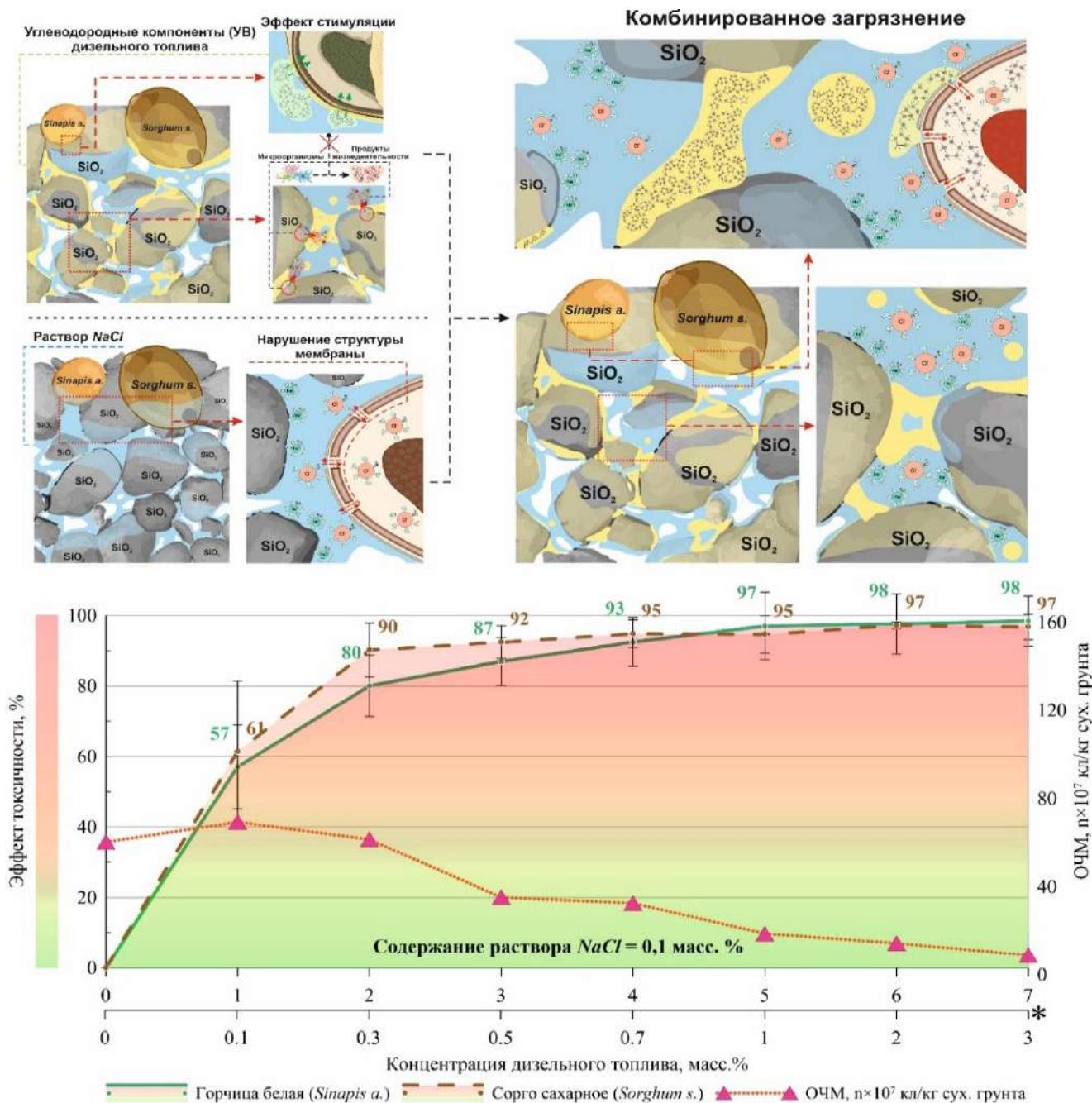


Рисунок 60. Функционирование системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при комбинированном загрязнении (*альтернативный вариант углеводородного загрязнения)

Для подтверждения предположения о наличии взаимодействий непосредственно между двумя использующимися загрязнителями при их внесении в песчаный грунт был исследован компонентный состав углеводородных соединений для двух вариантов дизельного топлива с учетом присутствия раствора хлорида натрия (таблица 8) [19]. Данные о составе углеводородных соединений были получены в результате анализа пирограмм (рисунок 61, а, б).

По результатам анализа компонентного состава углеводородных соединений при комбинированном загрязнении песчаной грунтовой системы можно сделать вывод, что в

зависимости от вида используемого дизельного топлива направленность изменений соотношения компонентов будет отличаться.

Таблица 8

Изменение компонентного состава используемых в экспериментальных исследованиях углеводородных соединений при комбинированном загрязнении¹⁵

Компонент, мг УВ/г грунта	Нефтяная фракция	Летнее дизельное топливо		Зимнее дизельное топливо	
		Вариант загрязнения			
		Одиночное	Комбинированное	Одиночное	Комбинированное
Насыщенные и ароматические углеводороды	C ₄ – C ₅	0,97±0,07	1,91±0,09	2,36±0,07	0,40±0,07
	C ₆ – C ₁₀	7,24±0,50	7,18±0,32	12,94±0,50	4,20±0,46
	C ₁₁ – C ₁₉	46,03±0,20	39,27±0,29	37,52±0,20	37,63±0,31
Смолы и асфальтены	C ₂₀ – C ₃₆	2,71±0,20	6,40±0,15	1,83±0,20	9,27±0,18
	>C ₃₇	0,06±0,01	0,04±0,01	0,06±0,01	0,05±0,01

Так, для зимнего дизельного топлива, при добавлении раствора хлорида натрия в грунтовую систему, будет значительно снижаться содержание фракции C₆ – C₁₀, а также в девять раз увеличивается содержание тяжелых фракций смол и асфальтенов (C₂₀ – C₃₆). В случае использования летнего дизельного топлива, увеличивается содержание легкой фракции углеводородов (C₄ – C₅), а также смол и асфальтенов (C₂₀ – C₃₆), и уменьшается содержание насыщенных и ароматических углеводородов (нефтяная фракция C₁₁ – C₁₉).

Таким образом, при внесении в песчаную грунтовую систему комбинированного углеводородного и хлоридно-натриевого загрязнений меняется компонентный состав УВ соединений, предположительно из-за возникающих взаимодействий между загрязняющими

¹⁵ Пиролитические исследования компонентного органического состава были проведены ведущим научным сотрудником научного центра «Рациональное освоение ресурсов жидких углеводородов планеты» (Rational development of liquid hydrocarbon resources of the planet) Е.В. Козловой на базе лаборатории центра добычи углеводородов СколТеха

веществами. Однако химическая и физико-химическая природа данного процесса, для выявления причин, требует дополнительных детальных и более глубоких исследований.

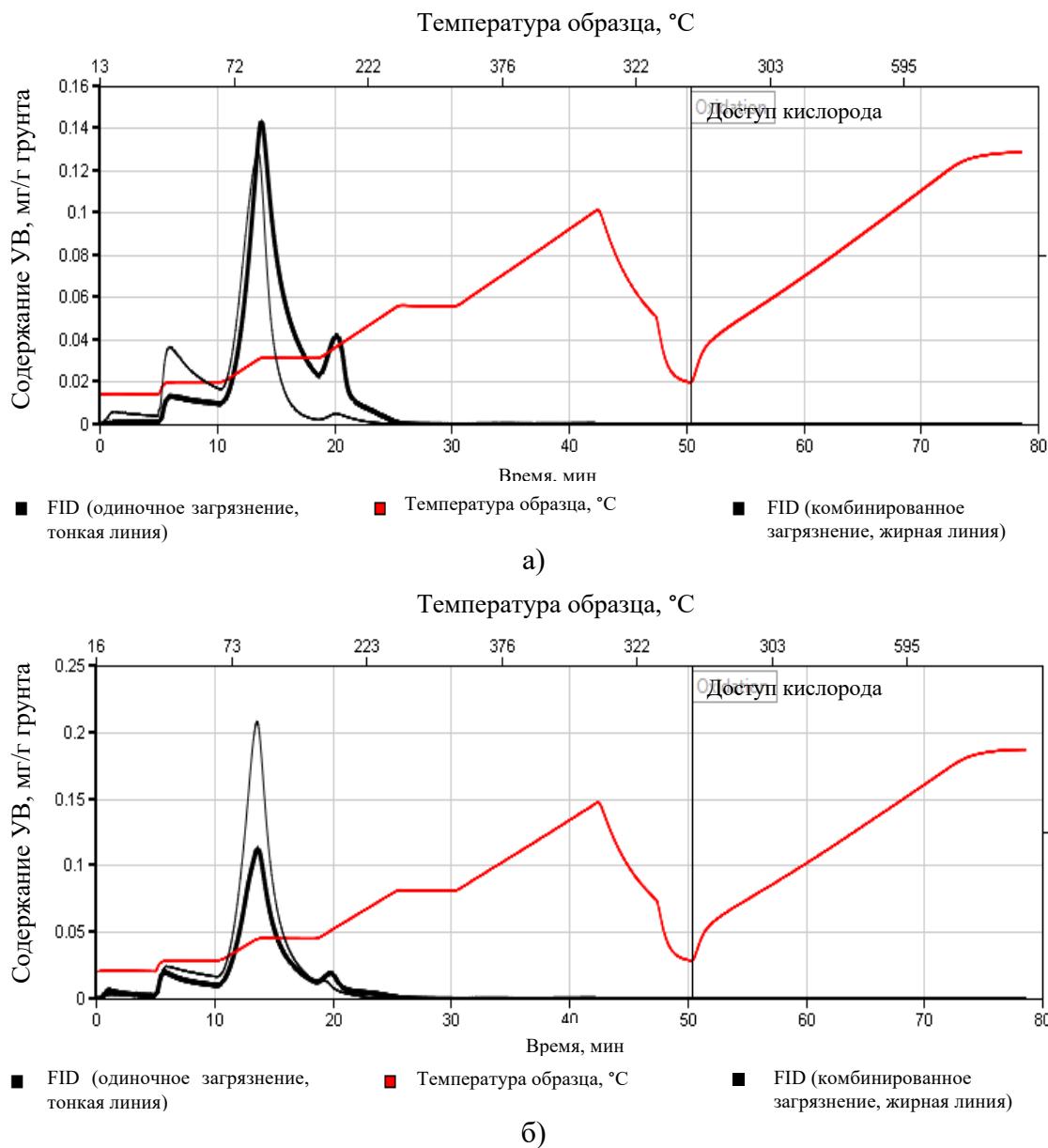


Рисунок 61. Пирограммы, полученные по методу нефтенасыщения, с одиночным и комбинированным загрязнениями для образцов: а) зимнего дизельного топлива; б) летнего дизельного топлива (FID – показания пламенно-ионизационного детектора (количество углеводородов))

Помимо описанных выше взаимодействий между непосредственно самими веществами-загрязнителями в песчаной грутовой системе, аналогично одиночному загрязнению, внесение углеводородов сопровождается процессами физической адсорбции и хемосорбции полярных молекул на поверхности кварцевых зерен. Добавление раствора хлорида натрия инициирует процесс формирования мостиковых и силоксановых связей с поверхностью

коллоидных частиц аморфного кремнезема в присутствии гидратированного иона натрия (Na^+). Гидратированные ионы хлора (Cl^-) находятся в жидкой фазе порового пространства [19].

Результаты определения численности активных микробных сообществ в песчаном грунте при комбинированном загрязнении позволяют сделать вывод о наличии ингибирующего эффекта по отношению к данному показателю во всем ряду исследуемых концентраций. Увеличение содержания загрязняющих веществ также приводит к закономерному снижению активности жизнедеятельности микроорганизмов в грунтовой системе.

По результатам аппликатного планшетного фитотестирования комбинированного загрязнения с использованием двух видов дизельного топлива можно заключить, что во всем ряду исследуемых концентраций загрязнителей наблюдается острый токсический эффект по отношению к тест-культуре высших растений: горчица белая и сорго сахарное. Подобный сценарий взаимодействия двух загрязнителей, при котором усиливается токсический эффект каждого из них, называется – синергизм [88]. Реализация синергетического взаимодействия, даже в случае комбинации отдельно биологически незначимых концентраций дизельного топлива и раствора хлорида натрия, обусловлена воздействием гидратированного иона хлора на защитную оболочку и мембранные структуры семян, ввиду чего токсичные компоненты углеводородного загрязнения оказываются способны воздействовать на клеточные структуры и ферментный аппарат развивающегося растения [52]. Однако, стоит отметить, что химическая и физико-химическая природа проявления данного эффекта требует дополнительных детальных экспериментальных и теоретических исследований.

Выводы к главе 8

1. При хлоридно-натриевом загрязнении песчаной грунтовой системы гидратированные ионы хлора и натрия отличаются различной степенью вовлеченности в химические и физико-химические взаимодействия. Ион натрия (Na^+) активно взаимодействует с поверхностью коллоидных частиц аморфного кремнезема, способствуя их сближению и формированию агрегатов. В свою очередь, наличие гидратированного иона хлора в растворе порового пространства определяет токсический эффект, оказываемый на исследуемые тест-культуры высших растений: горчица белая (*Sinapis a.*) и сорго сахарное (*Sorghum s.*), а также снижает активность сообществ микроорганизмов. Механизм проявления данного эффекта связан с явлением осмотического стресса в отношении набухающих семян тест-культур, а также взаимодействием хлора с защитной оболочкой и нарушением мембранных структур, что влечет за собой угнетение внутриклеточного ферментного аппарата.

2. При углеводородном загрязнении песчаной грунтовой системы инициируется процесс сорбции УВ компонентов на поверхности кварцевых зерен, эффективность закрепления определяется их молекулярной массой. При фитотестировании в поровом пространстве образуются эмульсии с присутствием прямых и обратных мицелл, соотношение которых меняется в зависимости от концентрации загрязнения. Нелинейная биологическая реакция используемых тест-культур высших растений и изменение общей численности активных микроорганизмов при увеличении содержания дизельного топлива в песчаной грунтовой системе, обусловлены органической природой компонентов углеводородного загрязнения. Также характер изменения токсического эффекта может быть описан с базовых позиций концепции пределов толерантности. В данном случае существует диапазон концентраций дизельного топлива (0,5 – 0,7 и 3 – 5 масс. %, в зависимости от вида нефти или типа продуктов ее переработки), который соответствует пределу толерантности для используемых тест-культур: горчицы белой и сорго сахарного. По отношению к сообществам микроорганизмов, этот предел смещен в сторону более низких концентраций, в данном случае в область 0,1 – 0,3 и 1 – 2 масс. %.

3. Внесение в песчаную грунтовую систему комбинированного загрязнения дизельным топливом и раствором хлорида натрия приводит к инициации сценариев взаимодействия этих веществ с поверхностью кварцевых зерен, наблюдаемых при одиночной контаминации. Также в результате взаимодействий непосредственно между двумя загрязняющими веществами меняется компонентный состав углеводородных соединений используемого нефтепродукта (дизельного топлива). Проявление острого токсического эффекта в отношении используемых тест-культур, а также ингибирование развития активных сообществ микроорганизмов во всем ряду исследуемых концентраций связано с реализацией синергетического сценария взаимодействия веществ-загрязнителей, при котором усиливается токсический эффект каждого. Проявление подобного эффекта даже в случае комбинации отдельно биологически незначимых концентраций загрязнителей, обусловлено воздействием гидратированного иона хлора на мембранный структуру и ферментный аппарат семени используемого растения в процессе развития.

Исходя из результатов диссертационного исследования, изложенных в главах 7 и 8, может быть сформулировано **следующее защищаемое положение:**

3. При комплексном загрязнении (нефтяными углеводородами и хлоридом натрия) песчаной грунтовой системы наибольшее токсическое воздействие на высшие растения при фитотестировании оказывает солевое загрязнение. Хлоридно-натриевое загрязнение песчаных грунтов, исходно содержащих нефтяные углеводороды (дизельное топливо) в биологически незначимых концентрациях, приводит к возникновению острого

токсического эффекта, вызванного синергетическим взаимодействием загрязнителей, в отношении исследуемых высших растений: двудольного – горчицы белой (*Sinapis alba* L.) и однодольного – сорго сахарного (*Sorghum saccharatum* L.) и не зависит от вида применяемых культур.

Заключение

Настоящее исследование направлено на изучение взаимодействия компонентов системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при фитотестировании для научно-обоснованной интерпретации биологической значимости уровня и состава загрязнения в песчаных грунтах. В рамках работы был реализован комплексный подход к покомпонентному описанию исследуемой системы на горно-породном уровне и выявлению закономерностей ее функционирования, с учетом базовых позиций грунтоведения.

Для обеспечения достоверности полученных результатов и исключения возможного влияния типа песчаного грунта на биологическую реакцию используемых при фитотестировании высших растений горчицы: белой (*Sinapis a.*) и сорго сахарного (*Sorghum s.*), были отобраны четыре вида песка, один из которых с территории действующего нефтяного месторождения.

Проведены экспериментальные исследования по определению показателей состава и свойств исследуемых песчаных грунтов, включающие, помимо физических характеристик: оценку содержания аморфного кремнезема, инструментальное определение удельной поверхности, изучение минерального и химического состава. Отдельная группа экспериментальных исследований была посвящена определению показателей биотических свойств: ферментативной активности и общей численности микроорганизмов, которые в свою очередь отражают направленность биогеохимических процессов в системе и активность жизнедеятельности сообществ микроорганизмов.

С целью определения возможных процессов взаимодействия используемых загрязняющих веществ с поверхностью кварцевых зерен, а также коллоидными частицами аморфного кремнезема проведены детальные электронно-микроскопические и микрозондовые исследования поверхности, также по результатам энергодисперсионного анализа, выявлены особенности распределения химических элементов на поверхности кристаллов кварца. С учетом экспериментальных исследований и теоретических представлений о физико-химических процессах, происходящих в песчаной грунтовой системе на границе раздела фаз, установлены закономерности влияния особенностей данных взаимодействия на биологическую значимость состава и уровня загрязнения.

Для оценки влияния биотических свойств песчаных грунтов и определенных физико-химических процессов, происходящих на поверхности кварцевых зерен, проведен масштабный лабораторный эксперимент по аппликатному планшетному фитотестированию, в ходе которого выполнено 850 единичных фитотестов, высажено 8500 семян используемых тест-культур, измерено и статистически обработано более 17000 единичных значений морфометрических параметров (всходесть, длина ростка и корня). Также при проведении

вегетационного эксперимента производилась оценка изменения уреазной, дегидрогеназной и пероксидазной ферментативных активностей вместе с определением общей численности микроорганизмов в исследуемых моделях загрязненного песчаного грунта.

На основании комплексного анализа полученных результатов экспериментальных исследований были определены закономерности биологической реакции используемых тест-культур высших растений как на одиночное, так и комбинированное загрязнение песчаного грунта, а также установлен характер изменения показателей биотических свойств в ходе проведения вегетационного эксперимента.

Описаны механизмы физико-химического взаимодействия компонентов углеводородного и хлоридно-натриевого загрязнения с поверхностью кварцевых зерен, а также проведен анализ результатов исследования биологической реакции семян высших растений, которые позволили выявить закономерности функционирования системы «загрязненный песчаный грунт – растение» при фитотестировании.

В соответствии с целью и задачами данного исследований были сделаны следующие основные выводы.

1. В исследуемой системе «загрязненный песчаный грунт – растение» можно выделить абиотическую и биотическую подсистемы, особенности взаимодействия компонентов которых определяют закономерности ее функционирования. Специфические физические и физико-химические свойства песчаных грунтов влияют на направленность механизмов взаимодействия веществ-загрязнителей с поверхностью кварцевых зерен, что, в свою очередь, оказывается на степени биодоступности потенциально токсичных соединений. Биотические свойства песчаных грунтов характеризуются показателями ферментативных активностей и общей численности микроорганизмов, присутствие в системе активных микробных сообществ способно оказывать значимое влияние на ее функционирование.

2. Для проведения экспериментальных исследований отобраны четыре различных вида песчаных грунтов, включая песок с территории «Усть-Балыкского» нефтяного месторождения. По результатам определения показателей их состава и свойств установлено, что все пески характеризуются: однородностью гранулометрического и минерального составов, преобладающим минералом является кварц (SiO_2); низкими значениями удельной поверхности (от 0,1 до 0,4 м²/г); содержанием аморфного кремнезема 0,29 до 1,84 масс. %. Для моделирования процесса загрязнения песчаной грунтовой системы на территориях нефтепромыслов использовались два вида дизельного топлива: летнее и зимнее (как углеводородное загрязнение), а также раствор хлорида натрия (как солевое загрязнение). Объектами исследования при

проводении аппликатного фитотестирования выступили культуры высших растений: горчица белая (*Sinapis a.*) и сорго сахарное (*Sorghum s.*).

3. Определяющую роль при взаимодействии используемых веществ-загрязнителей с поверхностью песчаных зерен играет наличие в системе коллоидных частиц аморфного кремнезема. При хлоридно-натриевом загрязнении гидратированные ионы натрия (Na^+) способны взаимодействовать с поверхностью коллоидных частиц аморфного кремнезема. Ион хлора (Cl^-) присутствует в жидкой фазе порового пространства, оставаясь в химически активной форме. Углеводородное загрязнение песчаной грунтовой системы инициирует процесс физической адсорбции полярных молекул на поверхности, причем прочность закрепления зависит от их молекулярной массы и положения. При комбинированном загрязнении реализуются физико-химические процессы взаимодействия, наблюдаемые при их одиночном внесении, в жидкой фазе образуется эмульсия. Наличие в системе иона натрия может препятствовать процессу адсорбции полярных компонентов углеводородного загрязнения, что предположительно может снижать прочность их закрепления на поверхности.

4. По результатам определения уреазной, дегидрогеназной и пероксидазной ферментативных активностей было получено, что для исследуемых песчаных грунтов не характерны значимые величины данных активностей, за исключением песка с территории нефтяного месторождения. Количественное определение активных сообществ микроорганизмов позволило установить диапазон изменения данного показателя для исходных песчаных грунтов от $0,06$ до $4,42 \times 10^7$ кл/кг сух. грунта. При определении закономерностей изменения данных показателей можно заключить, что уровень и состав загрязнения песчаной грунтовой системы, не влияют на значения определяемых ферментативных активностей. Увеличение концентрации токсикантов при хлоридно-натриевом и комбинированном загрязнении приводит к закономерному снижению показателей общей численности микроорганизмов. При углеводородном загрязнении были установлены диапазоны концентраций, в пределах которых увеличивается активность сообществ микроорганизмов. В зависимости от применяемого вида загрязнителя (нефтепродукта) они изменяются в пределах 0,1 – 0,3 масс. % (для летнего дизельного топлива) и 1,0 – 3,0 масс. % (для зимнего дизельного топлива).

5. Хлоридно-натриевое загрязнение песчаной грунтовой системы оказывает биологически значимый токсический эффект по отношению к используемым тест-культурам: горчица белая и сорго сахарное, при увеличении концентрации загрязнителя от 0,1 до 0,5 масс. %. Биологическая реакция используемых высших растений на содержание дизельного топлива в песчаном грунте носит нелинейный характер. В диапазонах концентраций 0,5 – 0,7 и 3,0 – 5,0 масс. % наблюдается резкое снижение токсического эффекта.

Комбинированное загрязнение песчаной грунтовой системы вызывает острый токсический эффект во всем ряду исследуемых концентраций.

6. Механизм проявления острого токсического эффекта при хлоридно-натриевом загрязнении песчаной грунтовой системы определяется проявлением осмотического стресса в отношении набухающих семян, а также взаимодействием иона хлора с защитной оболочкой и нарушением мембранных структур, что влечет за собой угнетение внутриклеточного ферментного аппарата. При углеводородном загрязнении песчаного грунта инициируется процесс сорбции полярных компонентов на поверхности кварцевых зерен, эффективность закрепления определяется их молекулярной массой, из-за чего наиболее токсичные соединения находятся в жидкой фазе. Нелинейная биологическая реакция используемых тест-культур и изменение общей численности активных микроорганизмов при увеличении содержания дизельного топлива, предположительно обусловлены органической природой компонентов загрязнителя. При внесении в грунт комбинированного загрязнения реализуются физико-химические процессы взаимодействия компонентов загрязняющих веществ с поверхностью кварцевых зерен, наблюдаемые при одиночном варианте. В процессе взаимодействия непосредственно самих веществ-загрязнителей меняется компонентный состав углеводородных соединений дизельного топлива. Проявление острого токсического эффекта в отношении используемых тест-культур, а также ингибирование развития активных сообществ микроорганизмов во всем ряду исследуемых концентраций связано с проявлением синергетического сценария взаимодействия веществ-загрязнителей.

Список литературы

1. Айлер Р. К. Химия кремнезема: растворимость, полимеризация, коллоидные и поверхностные свойства, биохимия: в 2 частях / Р. Айлер; пер. с англ. Л. Т. Журавлева, под ред. В. П. Прянишникова. – М.: Мир, 1982 – Ч.1. – 1982. – 416 с.
2. Ананьева, Ю. С. Экологическая оценка воздействия осадков сточных вод на почву по фитотестированию / Ю. С. Ананьева, А. С. Давыдов // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2009. – № 8(58). – С. 38-40.
3. Андреева, И. И. Ботаника: учебник для студентов высших учебных заведений / И. И. Андреева, Л. С. Родман; Ассоц. «Агрообразование». – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва: КолосС, 2010. – 527 с.
4. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв: учеб. пособие для студентов вузов / Е.В. Аринушкина. – М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1970. – 487 с.
5. Афанасьев, С. В. Нефтешламы как вторичное сырье / С. В. Афанасьев, М. А. Паис, Н. С. Носарев // Деловой журнал Neftegaz.RU. – 2020. – № 3,5. – С. 86-92.
6. Бачурин, Б. А. Характер техногенного преобразования природных геосистем в районах нефтедобычи / Б. А. Бачурин, А. А. Борисов // Горный информационно-аналитический бюллетень. – 2009. – № 12. – С. 299-304.
7. Белоусова, Е. Н. Динамика активности ферментов углеродного цикла в условиях перехода на минимальные технологии обработки / Е. Н. Белоусова, А. А. Белоусов // Вестник КрасГАУ. – 2024. – № 5(206). – С. 19-26. – DOI 10.36718/1819-4036-2024-5-19-26.
8. Биодиагностика экологических последствий углеводородного загрязнения песчаных грунтов / А. В. Морозов, С. С. Садов, И. Ю. Григорьева, Е. В. Федосеева // Экологическая геология: теория, практика и региональные проблемы: материалы VI Международной научно-практической конференции, Воронеж - Севастополь - Ханой - Воронеж, 15-18 сентября 2019 года. Том Часть 1. – Воронеж: «Цифровая полиграфия», 2019. – С. 184-189.
9. Биссвангер, Х. Практическая энзимология / Х. Биссвангер; пер. с англ. Т. П. Мосоловой; с предисл. А. В. Левашова. – Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2010. – 328 с.
10. Воробейчик, Е. Л. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень) / Е. Л. Воробейчик, О. Ф. Садыков, М. Г. Фарафонов; Российская академия наук, Уральское отделение, Институт экологии растений и животных, Концерн «Промэкология». – Екатеринбург: УИФ «Наука», 1994. – 280 с.
11. Гедройц, К. К. Химический анализ почв / К. К. Гедройц. – Издание 3-е. – Москва-Ленинград: Сельхозгиз, 1932. – 535 с.

12. Геология нефти и газа: Учебник для студентов учреждений высшего образования / В. И. Керимов, В. И. Ермолкин, А. С. Гаджи-Касумов, А. В. Осипов. – Москва: Академия, 2015. – 288 с.
13. ГОСТ Р ИСО 18763–2019. Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязняющих веществ на всхожесть и рост на ранних стадия развития высших растений // М.: Стандартинформ, 2019, – 27 с.
14. ГОСТ Р ИСО 22030–2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений // М.: Стандартинформ, 2009, – 29 с.
15. Григорьева, И. Ю. Биодиагностика экологического состояния дисперсных грунтов / И. Ю. Григорьева, А. В. Морозов, С. С. Садов // Сергеевские чтения. Фундаментальные и прикладные вопросы современного грунтоведения: Материалы годичной сессии Научного совета РАН по проблемам геоэкологии, инженерной геологии и гидрогеологии, Санкт-Петербург, 31 марта - 01 апреля 2022 года. – Москва: ГеоИнфо, 2022. – С. 355-361.
16. Григорьева, И. Ю. Грунты в действующей системе обращения с отходами / И. Ю. Григорьева, С. С. Садов, А. В. Морозов // Отходы и ресурсы. – 2024. – Т. 11, № 1. – С. 1-17.
17. Григорьева, И. Ю. Дисперсные грунты как объекты биодиагностики / И. Ю. Григорьева, А. В. Морозов, С. С. Садов // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2024. – № 5. – С. 43-57.
18. Григорьева, И. Ю. Ферментативная активность дисперсных грунтов: стоящие задачи и опыт экспериментальной оценки / И. Ю. Григорьева, М. А. Гладченко, А. В. Морозов // Грунтоведение. – 2025. – № 1(24). – С. 11-26.
19. Григорьева, И. Ю. Физико-химические процессы, происходящие на поверхности кварцевого песка при внесении загрязнения, и их влияние на результаты фитотестирования / И. Ю. Григорьева, А. В. Морозов, М. А. Гладченко // Грунтоведение. – 2022. – № 2(19). – С. 27-39.
20. Григорьева, И. Ю. Эколо-геологические аспекты влияния углеводородного загрязнения на свойства песчаных грунтов / И. Ю. Григорьева // Инженерно-геологическое и эколо-геологическое изучение песков и песчаных массивов: Труды Международной научной конференции, Москва, 27–28 сентября 2018 года / Под редакцией В. Т. Трофимова, В. А. Королева. – Москва: ООО «СамПринт», 2018. – С. 218-222.
21. Дабахов, М. В. Тяжелые металлы: экотоксикология и проблемы нормирования / М. В. Дабахов, Е. В. Дабахова, В. И. Титова; – Н. Новгород: Нижегор. ГСХА, 2005. – 164 с.

22. Жирных, С. С. Влияние нормы высева и срока посева на урожайность надземной биомассы горчицы белой и желтой / С. С. Жирных // Вестник Марийского государственного университета. Серия: Сельскохозяйственные науки. Экономические науки. – 2018. – Т. 4, № 4(16). – С. 29-35.
23. Закономерности движения почвенной влаги / И. И. Судницын, А. В. Смагин, Н. Б. Садовникова [и др.]. – Москва: ООО «МАКС Пресс», 2017. – 108 с.
24. Зильберман, М. В. Биотестирование почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами / М. В. Зильберман, Е. А. Порошина, Е. В. Зырянова; Федер. гос. учреждение «Урал. гос. науч.-исслед. ин-т регион. экол. проблем». – Пермь: ФГУ УралНИИ «Экология», 2005. – 110 с.
25. Зубкова, Е. Н. Физиология фотопериодической чувствительности у растительных организмов при различной продолжительности светового периода / Е. Н. Зубкова, Т. А. Белова // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2017. – Т. 25, № 1. – С. 50-57.
26. Иллюстрированный определитель растений Средней России / И. А. Губанов, К. В. Киселева, В. С. Новиков, В. Н. Тихомиров. – Москва: товарищество науч. изд. КМК: Ин-т технол. исслед., 2003. – 665 с.
27. Казеннов, С. М. Воздействия объектов нефтепродуктообеспечения на геологическую среду / С. М. Казеннов, А. И. Арбузов, Ю. В. Ковалевский // Геоэкология. – 1998. – № 1. – С. 54-74.
28. Качинский, Н. А. Физика почвы / Н. А. Качинский. – Москва: Издательство «Высшая Школа», 1965. – 323 с.
29. Ковалева, Е. И. Биоиндикация в разработке нормативов ДОСНП (на примере почв сухостепной зоны) / Е. И. Ковалева, С. Я. Трофимов // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения : Материалы IV международного симпозиума, Москва, 28–31 августа 2023 года. – Москва: Постер-М, 2023. – С. 112-118.
30. Ковда, В. А. Биогеохимия почвенного покрова / В. А. Ковда. – Москва: ФГУП «Академический научно-издательский, производственно-полиграфический и книго-распространительский центр «Наука», 1985. – 263 с.
31. Ковзик, Н. А. Экологические особенности растительности, сформированной на массивах намывных песков в пределах города Гомеля / Н. А. Ковзик // Вестник Приамурского государственного университета им. Шолом-Алейхема. – 2019. – № 3(36). – С. 36-40.
32. Конторович, А. Э. Геология нефти и газа: избранные труды (1960–1989 гг.): [в 3 т.] / А. Э. Конторович; Министерство природных ресурсов Российской Федерации, Сибирский

научно-исслед. ин-т геологии, геофизики и минерального сырья. – Новосибирск: СНИИГГиМС, 2008. – 539 с.

33. Коробкин, В. И. Экология и охрана окружающей среды: учебник / В. И. Коробкин, Л. В. Передельский. – 2-е изд. – Москва: «КноРус», 2014. – 336 с.
34. Королев, В. А. История инженерно-геологического изучения песков в СССР и Российской Федерации / В. А. Королев, В. Т. Трофимов // Инженерная геология. – 2017. – № 1. – С. 4-19.
35. Королев, В. А. К построению общей классификации континентальных эколого-геологических систем / В. А. Королев, В. Т. Трофимов // Вестник Московского университета. Серия 4: Геология. – 2022. – № 1. – С. 54-61.
36. Королев, В. А. Очистка грунтов от загрязнений / В. А. Королев // М.: МАИК «Наука/Интерperiодика», 2001. – 365 с.
37. Королев, В. А. Электрохимическая очистка загрязненных грунтов / В. А. Королев // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2003. – № 3. – С. 226-237.
38. Костенко, Е. А. Мониторинг загрязнения сельскохозяйственной зоны г. Ставрополя методом биотестирования / Е. А. Костенко // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В. И. Вернадского. – 2015. – № 2(56). – С. 15-21.
39. Костенко, Е. А. Применение методов биотестирования для оценки состояния почв дачно-садоводческих товариществ г. Ставрополя / Е. А. Костенко, И. О. Лысенко // Вестник АПК Ставрополья. – 2012. – № 3(7). – С. 104-108.
40. Красильников, П. А. Изучение закономерностей и построение математических моделей распределения углеводородов по разрезу на территориях нефтеперерабатывающих предприятий / П. А. Красильников, В. В. Середин // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Геология. Нефтегазовое и горное дело. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 191-200.
41. Крылова, А. Ю. Катализаторы синтеза Фишера-Тропша для процессов получения жидкого топлива из различного сырья / А. Ю. Крылова, М. В. Куликова, А. Л. Лапидус // Химия твердого топлива. – 2014. – № 4. – С. 18-21.
42. Крылов, О. В. Гетерогенный катализ: учеб. пособие для студентов вузов / О. В. Крылов; – Москва: Академкнига, 2004. – 679 с.
43. Лабораторные работы по грунтоведению: учеб. пособие / В. А. Королев, Е. Н. Самарин, С. К. Николаева и др.; Под ред. В. Т. Трофимова и В. А. Королева – М.: Высш. Шк., 2008. – 519 с.
44. Лисичкин, Г. В. Химия привитых поверхностных соединений: Учеб. пособие для студентов вузов / Г. В. Лисичкин, А. Ю. Фадеев, А. А. Сердан. – Москва: Физматлит, 2003. – 592 с.

45. Лисовицкая, О. В. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения / О. В. Лисовицкая, В. А. Терехова // Доклады по экологическому почвоведению. – 2010. – Т. 1, № 13. – С. 1-18.
46. Ляшенко О.А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды: учебное пособие /О.А. Ляшенко. – СПб.: СПб ГТУРП, 2012. – 67 с.
47. Маячкина, Н. В. Особенности биотестирования почв с целью их экотоксикологической оценки / Н. В. Маячкина, М. В. Чугунова // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2009. – № 1. – С. 84-93.
48. Мелехова, О. П. Принципы и методы биологического контроля в системе экологического мониторинга / О. П. Мелехова // Безопасность в техносфере. – 2008. – № 5. – С. 14-20.
49. Методология биодиагностики почв и особенности некоторых методов биоиндикации и биотестирования (обзор) / В. А. Терехова, С. А. Кулачкова, Е. В. Морачевская, А. П. Кирюшина // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. – 2023. – № 2. – С. 35-45.
50. Морозов, А. В. Биологическая значимость засоления нефтешламов для месторождений Западной Сибири / А. В. Морозов, И. Ю. Григорьева // Молодые – Наукам о Земле: Тезисы докладов X Международной научной конференции молодых ученых. В 7-ми томах, Москва, 31 марта - 01 апреля 2022 года / Редколлегия: Ю. П. Панов, Р. Н. Мустаев. Том 3. – Москва: РГГУ им. С. Орджоникидзе, 2022. – С. 201-205.
51. Морозов, А. В. Влияние физико-химических процессов, происходящих в загрязненном песчаном грунте, на результаты фитотестирования с применением культуры горчицы белой (*Sinapis alba L.*) / А. В. Морозов, И. Ю. Григорьева, М. А. Гладченко // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: Материалы IV международного симпозиума, Москва, 28-31 августа 2023 года. – Москва: Постер-М, 2023. – С. 176-181.
52. Морозов, А. В. Особенности реакции высших растений на углеводородное загрязнение песчаного грунта при фитотестировании / А. В. Морозов, И. Ю. Григорьева, М. А. Гладченко // Геоэкология. Инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2025. – № 3. – С. 38-47.
53. Нагорнов, С. А. Исследование состава нефтяных шламов / С. А. Нагорнов, С. В. Романцова, Л. А. Черкасова // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2001. – Т. 6, № 1. – С. 26-28.
54. Назаров, А. В. Влияние нефтяного загрязнения почвы на растения / А. В. Назаров // Вестник Пермского университета. – 2007. – № 5(10). – С. 134-141.

55. Неорганическая химия: Химия элементов / А. Н. Григорьев, Л. И. Мартыненко, Ю. Д. Третьяков [и др.]. – 4-е издание, стереотипное. – Москва: Издательство Московского университета, 2024. – 590 с.
56. Нефтепродукты: Свойства, качество, применение: Справочник / Под ред. проф. Б. В. Лосикова. – Москва: Химия. – 1966. – 776 с.
57. Новиков, А. А. Сравнительный анализ свойств нефтий месторождений Западной Сибири / А. А. Новиков, И. М. Федяева // Вестник Югорского государственного университета. – 2010. – № 4(19). – С. 81-83.
58. Новоселова, Е. И. Роль ферментативной активности в осуществлении почвой трофической функции в условиях нефтяного загрязнения / Е. И. Новоселова, А. Ф. Тухватуллина // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – № 6(100). – С. 592-593.
59. Новый подход к кинетическим исследованиям органического вещества баженовской свиты / Р. С. Кашапов, И. В. Гончаров, Н. В. Обласов [и др.] // Геология нефти и газа. – 2020. – № 3. – С. 51-59.
60. Одум Ю. Основы экологии: перевод с 3-го английского издания / Ю. Одум; под редакцией и с предисловием доктора биологических наук Н. П. Наумова. – Москва: Мир, 1975. – 740 с.
61. Околелова, А. А. Фитотоксичность нефтезагрязненных почв / А. А. Околелова, А. С. Мерзлякова, Н. В. Герман // Естественно-гуманитарные исследования. – 2014. – № 1(3). – С. 26-31.
62. Оценка фитотоксичности глюконатов и хлоридов ряда d-элементов с использованием кress-салата (*Lepidium sativum*) / Д. В. Зейферт, Ф. Р. Опарина, Н. Р. Тукумбетова [и др.] // Башкирский химический журнал. – 2012. – Т. 19, № 4. – С. 20-23.
63. Песчаные грунты России: в 2 томах. Том 1 / В.Т. Трофимов [и др.]; под ред. В.Т. Трофимова. – Москва: Издательство Московского Университета, 2021. – 394 с.
64. Песчаные грунты России: в 2 томах. Том 2 / В.Т. Трофимов [и др.]; под ред. В.Т. Трофимова. – Москва: Издательство Московского Университета, 2021. – 382 с.
65. Пиковский, Ю.И. Природные и техногенные потоки углеводородов в окружающей среде / Ю.И. Пиковский. – Москва: Изд-во МГУ, 1993. – 208 с.
66. Подвижные кремниевые соединения в системе почва-растение и методы их определения / И. В. Матыченков, Д. М. Хомяков, Е. П. Пахненко [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. – 2016. – № 3. – С. 37-46.
67. Практикум по агрохимии / В. Г. Минеев, В. Г. Сычев, О. А. Амельянчик [и др.]; Под редакцией профессора В.Г. Минеева. – 2-е изд. – Москва: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Издательский Дом (Типография), 2001. – 689 с.

68. Практикум по биотестированию экотоксичности почв: Учебное пособие / В. А. Терехова, А. А. Рахлеева, Е. В. Федосеева, А. П. Кирюшина. – Москва: ООО «МАКС Пресс», 2022. – 102 с.
69. Рахлеева, А. А. Роль зоогенных структур крупных почвенных беспозвоночных в создании и поддержании неоднородности почвенных свойств (обзор) / А. А. Рахлеева // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. – 2022. – № 3. – С. 30-35.
70. Реутов, О. А. Органическая химия. Часть 1. Учебник / О. А. Реутов, А. Л. Курц, К. П. Бутин. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 496 с.
71. Саксонов, М. Н. Определение класса опасности отходов методами биотестирования / М. Н. Саксонов, А. Э. Балаян, О. А. Бархатова // Известия Иркутской государственной экономической академии (Байкальский государственный университет экономики и права). – 2011. – № 1. – С. 51-55.
72. Саркисов, Г. А. Оценка влияния углеводородного загрязнения дисперсных грунтов на их влажностные характеристики / Г. А. Саркисов, И. Ю. Григорьева // Сергеевские чтения. Инженерная геология и геоэкология. Фундаментальные проблемы и прикладные задачи: Юбилейная конференция, посвященная 25-летию образования ИГЭ РАН, Москва, 24-25 марта 2016 года / Ответственный редактор В.И. Осипов. Том Выпуск 18. – Москва: Российский университет дружбы народов, 2016. – С. 420-424.
73. Солнцева Н.П. Добыча нефти и геохимия природных ландшафтов / Н.П. Солнцева – М.: МГУ, 1998. – 346 с.
74. Специфика хитинолитического микробного комплекса в почвах, инкубируемых при различных температурах / Н. А. Манучарова, А. Н. Власенко, Е. В. Менько, Д. Г. Звягинцев // Микробиология. – 2011. – Т. 80, № 2. – С. 219-229.
75. Стариков, А. И. Предупреждение осложнений при бурении скважин на Южно-Приобском месторождении / А. И. Стариков, Ю. В. Коржов // Бюллетень науки и практики. – 2021. – Т. 7, № 11. – С. 80-85.
76. Столбова, В. В. Взаимосвязь фитотоксичности со свойствами тестируемых почв, содержащих группу полициклических ароматических углеводородов / В. В. Столбова, Д. В. Берегела // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. – 2015. – № 2. – С. 35-41.
77. Стрельников, В. В. Загрязнение окружающей среды / В. В. Стрельников. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2019. – 46 с.
78. Судницын, И. И. Дифференциальная влагоемкость почв разного генезиса / И. И. Судницын // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. – 2015. – № 4. – С. 43-48.

79. Судницын, И. И., Степанов, А.Л. Почва - вода - растения - микроорганизмы / Palmarium Academic Publishing Saarbrucken, 2014. – 229 с.
80. Сукачев В.Н. Основы типологии и биогеоценологии / Сукачев В.Н. Избр. труды. Т. 1. Л.: Наука, 1972. – 420 с.
81. Теоретические основы инженерной геологии. Физико-химические основы / Под ред. акад. Е. М. Сергеева. – М.: Недра, 1985. – 288 с.
82. Теория и методология экологической геологии / Под ред. В.Т. Трофимова. М.: Изд-во МГУ, 1997. – 364 с.
83. Терехова, В. А. Биотестирование почв: подходы и проблемы / В. А. Терехова // Почвоведение. – 2011. – № 2. – С. 190-198.
84. Терехова, В. А. Биотестирование экотоксичности почв при химическом загрязнении: современные подходы к интеграции для оценки экологического состояния (обзор) / В. А. Терехова // Почвоведение. – 2022. – № 5. – С. 586-599.
85. Терехова, В. А. Здоровье почв: интегральные индикаторы абиотического и биотического состояния / В. А. Терехова // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: Материалы IV международного симпозиума, Москва, 28-31 августа 2023 года. – Москва: Постер-М, 2023. – С. 237-241.
86. Терлецкая, Н. В. Повреждающее действие абиотических стрессов на растительные клетки зерновых злаков / Н. В. Терлецкая // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. – 2009. – Т. 131. – С. 152-156.
87. Тимофеева, С. С. Источники загрязнения среды обитания : учебное пособие для вузов / С. С. Тимофеева, Л. И. Белых. – Иркутск: Иркутский государственный технический университет, 2008. – 363 с.
88. Тимофеева, С. С. Современные методы экологической диагностики загрязнения почв / С. С. Тимофеева // Вестник Иркутского государственного технического университета. – 2011. – № 11(58). – С. 88-94.
89. Товарные нефтепродукты, их свойства и применение. Справочник / под ред. Н. Г. Пучкова. – М.: Химия, 1978. – 472 с.
90. Трофимов В.Т. Закономерности пространственной изменчивости инженерно-геологических условий Западно-Сибирской плиты / Москва: Изд-во Моск. Ун-та, 1977. – 278 с.
91. Трофимов В.Т., Зилинг Д.Г. Экологическая геология: учебник / М.: ЗАО «Геоинформмарк», 2002. – 417 с.

92. Трофимов, В. Т. Массивы песчаных грунтов как объекты эколого-геологических исследований / В. Т. Трофимов, В. А. Королев // Вестник Московского университета. Серия 4: Геология. – 2018. – № 2. – С. 59-65.
93. Трофимов, В. Т. Пространственное распределение грунтовых толщ песчаных и с песчаной составляющей разного состава и их современного состояния на территории России / В. Т. Трофимов, Н. С. Красилова // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел геологический. – 2018. – Т. 93, № 1. – С. 68-80.
94. Трофимов, В. Т. Эколого-геологическая система, ее типы и положение в структуре экосистемы / В. Т. Трофимов // Вестник Московского университета. Серия 4: Геология. – 2009. – № 2. – С. 48-52.
95. Удовенко, Г.В. Механизмы адаптации растений к стрессам // Физиология и биохимия культурных растений. – 1979. – Т 11. – № 2. – С. 99-107.
96. Факультативные патогенные грибы как индикаторы загрязнения почв тяжелыми металлами / Е. В. Федосеева, О. С. Лучкина, В. М. Терешина [и др.] // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: Материалы IV международного симпозиума, Москва, 28-31 августа 2023 года. – Москва: Постер-М, 2023. – С. 253-259.
97. 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. – С. 797-803.
98. Чудинова, Л. А. Физиология устойчивости растений: учебное пособие к спецкурсу / Л. А. Чудинова, Н. В. Орлова; Федеральное агентство по образованию, ГОУ ВПО «Пермский гос. ун-т». – Пермь: Пермский ун-т, 2006. – 123 с.
99. Шеуджен, А. Х. Биогеохимия / А. Х. Шеуджен; Кубанский государственный аграрный университет, Федеральный научный центр риса, Майкопский государственный технологический университет. – Майкоп: Республиканское издательско-полиграфическое предприятие «Адыгея», 2003. – 1028 с.
100. Щукин, Е. Д. Коллоидная химия: учебник для бакалавров / Е. Д. Щукин, А. В. Перцов, Е. А. Амелина. – 7-е изд., испр. и доп. – Москва: Издательство Юрайт, 2013. – 444 с.
101. Экологические функции литосферы / В. Т. Трофимов, Д. Г. Зиллинг, Т. А. Барабошкина [и др.]. – Москва: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Издательский Дом (Типография), 2000. – 430 с.

102. Экотоксикологическая оценка повышенного содержания фосфора в почвогрунте по тест-реакциям растений на разных стадиях развития / В. А. Терехова, Д. Б. Домашнев, М. А. Каниськин, А. В. Степачев // Проблемы агрохимии и экологии. – 2009. – № 3. – С. 21-26.
103. Эффективный скрининг солеустойчивости растений для создания новой фитотест-системы / Е. Р. Кирякина, А. П. Кирюшина, Е. Н. Деревенец и др. // Проблемы агрохимии и экологии. – 2024. – № 3. – С. 31-36.
104. Abbas, S. Z. Recent advances in soil microbial fuel cells for soil contaminants remediation / S. Z. Abbas, M. Rafatullah // Chemosphere. – 2021. – Vol. 272. – P. 1-12. – DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129691.
105. Addy, J. M. Ecological effects of low toxicity oil-based mud drilling in the Beatrice oilfield / J. M. Addy, J. P. Hartley, P. J. C. Tibbetts // Marine Pollution Bulletin. – 2003. – Vol. 15, № 12. – P. 421-455.
106. Baig, Z. T. Assessment of degradation potential of *Pseudomonas* species in bioremediating soils contaminated with petroleum hydrocarbons / Z. T. Baig, S. A. Abbasi, A. G. Memon, A. Naz, A. F. Soomro // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. – 2022. – Vol. 97, № 2. – P. 455-465.
107. Barbosa, L. Synergistic effects of organic carbon and silica in preserving structural stability of drying soils / L. Barbosa, M. Stein, H. Gerke, J. Schaller // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14, № 1. – P. 1-11.
108. Bekele, G. Factors influencing the bacterial bioremediation of hydrocarbon contaminants in the soil: mechanisms and impacts / G. Bekele, T. Tafese, E. Abda, M. Kamaraj, F. Assefa // Journal of Chemistry. – 2021. – Article ID 9823362. – P. 1-17.
109. Bingari, H. S. Sorption modelling of crude oil-contaminated soils using a derived spectral index / H. S. Bingari, A. Gibson, R. Teeuw // Geoderma. – 2024. – Vol. 447. – P. 116-135.
110. Boehm, A. B. Diversity and transport of microorganisms in intertidal sands of the California Coast / A. B. Boehm, K. M. Yamahara, L. M. Sassoubre // Applied and Environmental Microbiology. – 2014. – Vol. 80, № 13. – P. 3943-3951.
111. Casseils, N. P. Microtox testing of pentachlorophenol in soil extracts and quantification by capillary electrochromatography (CEC) – a rapid screening approach for contaminated land / N. P. Casseils, C. S. Lane, M. Depala, M. Saeed, D. H. Craston // Chemosphere. – 2000. – Vol. 41, № 4. – P. 609-618.
112. Chang, Z. Z. Oil bioremediation in a high and low phosphorous soil / Z. Z. Chang, R. W. Weaver, R. L. Rhykerd // Journal of Soil Contamination. – 1996. – Vol. 5, № 2. – P. 215-224.

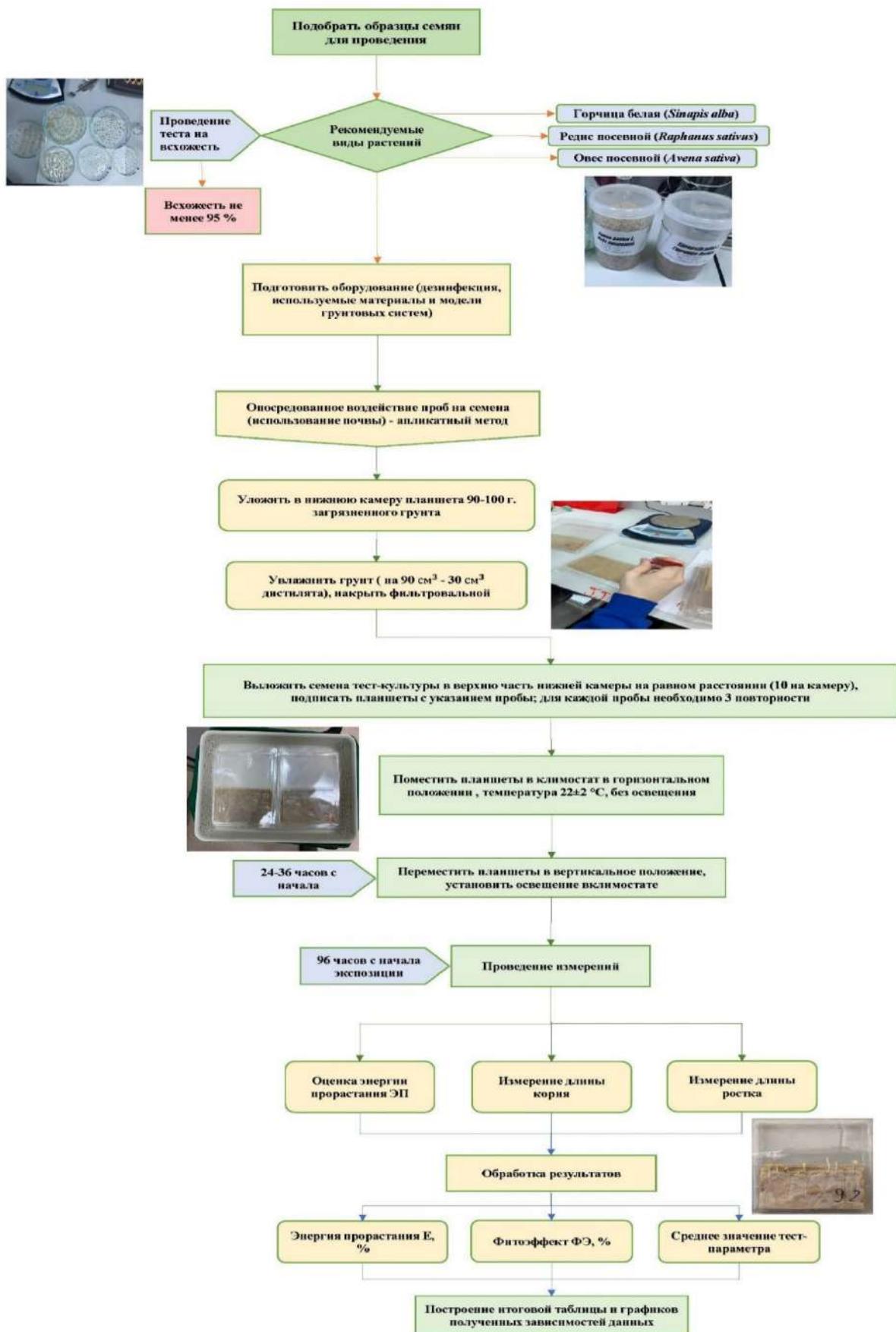
113. Chemical characterization and effects on *Lepidium sativum* of the native and bioremediated components of dry olive mill residue / E. Aranda, I. García-Romera, J. A. Ocampo [et al.] // Chemosphere. – 2007. – Vol. 69, No. 2. – P. 229-239. – DOI 10.1016/j.chemosphere.2007.04.026.
114. Cherniak, L. The usage of plant test systems for the determination of phytotoxicity of soils contaminated with petroleum products / L. Cherniak, O. Mikhyeyev, S. Madzhd, O. Lapan, I. Korniienko, T. Dmytrukha // Journal of Ecological Engineering. – 2021. – Vol. 22, № 5. – P. 66-71.
115. Cowan, M. F. Crop wild relatives as a genetic resource for generating low-cyanide, drought-tolerant Sorghum / M. F. Cowan, C. K. Blomstedt, S. L. Norton [et al.] // Environmental and Experimental Botany. – 2020. – Vol. 169. P. 1-13. – DOI: 10.1016/j.envexpbot.2019.103884.
116. Crang, R. F. E. Plant anatomy: A concept-based approach to the structure of seed plants / R. F. E. Crang, S. Lyons-Sobaski, R. Wise. – Cham: Springer, 2018. – 725 p.
117. Czerniawska-Kusza, I. Comparison of the Phytotoxkit microbiotest and chemical variables for toxicity evaluation of sediments / I. Czerniawska-Kusza, T. Ciesielczuk, G. Kusza, A. Cichon // Environmental Toxicology. – 2006. – Vol. 21, № 4. – P. 367-372.
118. Elijah, A. A. A review of the petroleum hydrocarbons contamination of soil, water and air and the available remediation techniques, taking into consideration the sustainable development goals / A. A. Elijah // Earthline Journal of Chemical Sciences. – 2022. – Vol. 7, № 1. – P. 97-113.
119. Fanin, N. Soil enzymes in response to climate warming: Mechanisms and feedbacks / N. Fanin, M. Mooshammer, M. Sauvadet [et al.] // Functional Ecology. – 2022. – Vol. 36, № 6. – P. 1378-1395.
120. Feldman, A. Nanoscale analyses of x-ray amorphous material from terrestrial ultramafic soils record signatures of environmental conditions useful for interpreting past martian conditions / A. Feldman, E. Hausrath, E. Rampe [et al.] // ACS Earth and Space Chemistry. – 2024. – Vol. 9, № 1. – P. 31-48. – DOI: 10.1021/acsearthspacechem.4c00158.
121. Gorsuch, J. Comparative toxicities of six heavy metals using root elongation and shoot growth in three plant series / J. Gorsuch, R. Merrilee, E. Anderson // Environmental Toxicology and Risk Assessment. – 1995. – Vol. 3. – P. 377-391.
122. Hadi, L. The prediction of COOH functionalized carbon nanotube application in melphalan drug delivery / L. Hadi, M. Ali, H. M. Momen // Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics. – 2019. – Vol. 10, № 4. – P. 438-446.
123. He, B. Exploring the fate of heavy metals from mining and smelting activities in soil-crop system in Baiyin, NW China / B. He [et al.] // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2021. – Vol. 207. – P. 111-130. – DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111430.

124. Hoang, S. A. Mitigation of petroleum-hydrocarbon-contaminated hazardous soils using organic amendments: a review / S. A. Hoang [et al.] // Journal of Hazardous Materials. – 2021. – Vol. 416. – P. 125-142. – DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.125702.
125. Kolbel-Boelke, J. Microbial communities in the saturated groundwater environment. II. Diversity of bacterial communities in a Pleistocene sand aquifer and their in vitro activities / J. Kolbel-Boelke, E. M. Anders, A. Nehrkorn // Microbial Ecology. – 1988. – Vol. 16, № 1. – P. 44-51.
126. Lemanowicz, J. Enzymatic variation of soils exposed to the impact of the soda plant in terms of biochemical parameters / J. Lemanowicz, A. Siwik-Ziomek, J. Koper // International Journal of Environmental Science and Technology. – 2018. – Vol. 16, № 7. – P. 3309-3316.
127. Le, V. G. Ecotoxicological response of algae to contaminants in aquatic environments: a review / V. G. Le, M. K. Nguyen, H. L. Nguyen [et al.] // Environmental Chemistry Letters. – 2024. – Vol. 22. – P. 919-939. – DOI: 10.1007/s10311-023-01680-5.
128. Li, X. Salinity and conductivity amendment of soil enhanced the bioelectrochemical degradation of petroleum hydrocarbons / X. Li, X. Wang, Y. Zhang [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 1-12. – DOI: 10.1038/srep32861.
129. Matthew, M. Bioremediation of oil contaminated beach sediments using indigenous microorganisms in Singapore / M. Matthew, J. P. Obbard, T. P. Ting, Y. H. Gin, H. M. Tan // Acta Biotechnologica. – 1999. – Vol. 19, № 3. – P. 225-233.
130. Meharg, A. Trace Elements in Soils and Plants. 4th edition. By A. Kabata-Pendias [Review] / A. Meharg // Experimental Agriculture. – 2011. – Vol. 47, № 4. – P. 739-751.
131. Mendes, B. Sanitary quality of sands from beaches of Azores islands / B. Mendes, P. Urbano, C. Alves [et al.] // Water Science and Technology. – 1997. – Vol. 35, № 11-12. – P. 147-150. – DOI: 10.2166/wst.1997.0856.
132. Meng, F. Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth to soil contaminated with microplastics / F. Meng, X. Yang, M. Riksen, M. Xu, V. Geissen // Science of The Total Environment. – 2021. – Vol. 755, Part 2. – P. 142-160. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142516.
133. Pathak, S. P. Safety evaluation of drilling mud toxicity with mysid shrimp bioassay / S. P. Pathak, K. Gopal, R. C. Srimal // Journal of Ecophysiology and Occupational Health. – 2001. – Vol. 1, № 1-4. – P. 73-79.
134. Persoone, G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit / G. Persoone // 12th International Symposium on Toxicity Assessment: book of abstracts. – 2005. – 112 p.

135. Persoone, G. Comparison between Toxkit microbiotests and standard tests / G. Persoone, K. Wadhia // Ecotoxicological Characterization of Waste. Results and Experiences of an International Ring Test / ed. by H. Moser, J. Rombke. – New York: Springer Ltd., 2008. – P. 213-216.
136. Roses Codinachs, M. Microbiological contamination of the sand from the Barcelona city beaches / M. Roses Codinachs, A. M. Isern Vins, M. D. Ferrer Escobar, F. Fernandez Perez // Revista de Sanidad e Higiene Publica. – 1988. – Vol. 62, № 5-8. – P. 1537-1544.
137. Phytotoxkit. Seed germination and early growth microbiotest with higher plants. Standard Operational Procedure. – Nazareth, Belgium: MicroBioTests Inc., 2004. – 91 p.
138. Plaza, G. The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation / G. Plaza, G. Nalęcz-Jawecki // Chemosphere. – 2005. – Vol. 59, № 2. – P. 289-296. – DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.11.049.
139. Santin-Montanya, I. Bioassay for determining sensitivity to sulfosulfuron on seven plant species / I. Santin-Montanya, J. L. Alonso-Prados, M. Villarroya // Journal of Environmental Science and Health. Part B. – 2006. – Vol. 41. – P. 781-793. – DOI: 10.1080/03601230600674810.
140. Simpson, M. G. Plant Systematics / M. G. Simpson. – 2nd ed. – San Diego: Academic Press, 2010. – 740 p.
141. SinceEducation [Электронный ресурс]. – URL: <https://science-education.com> (дата обращения: 12.12.2020).
142. Streibig, J. C. Variability of bioassays with metsulfuron-methyl in soil / J. C. Streibig, A. Walker, A. M. Blair, G. Anderson-Taylor // Weed Research. – 1995. – Vol. 35, № 4. – P. 215-224.
143. Upton, R. Botanical ingredient identification and quality assessment: strengths and limitations of analytical techniques / R. Upton [et al.] // Phytochemistry Reviews. – 2020. – Vol. 19, № 5. – P. 1157-1177. – DOI: 10.1007/s11101-020-09688-9.
144. Vangronsveld, J. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field / J. Vangronsveld, R. Herzig, N. Weyens [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2009. – Vol. 16, № 7. – P. 765-794. – DOI: 10.1007/s11356-009-0213-6.
145. Velavan, S. Phytochemical techniques - a review / S. Velavan // World Journal of Science and Research. – 2015. – Vol. 1, № 2. – P. 80-91.
146. Vreeland, R. H. Mechanisms of halotolerance in microorganisms / R. H. Vreeland // CRC Critical Reviews in Microbiology. – 1987. – Vol. 14, № 4. – P. 311-356. – DOI: 10.3109/10408418709104451.
147. Wang, H. Photosynthetic toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on green algae Scenedesmus obliquus / H. Wang [et al.] // Science of the Total Environment. – 2020. – Vol. 707. – P. 136-176. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.135560.

148. Wang, X. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus* / X. Wang, C. Sun, S. Gao, L. Wang, H. Shuokui // Chemosphere. – 2001. – Vol. 44, № 8. – P. 1711-1721. – DOI: 10.1016/S0045-6535(00)00552-8.
149. Weis, J. S. Pollutants as developmental toxicants in aquatic organisms / J. S. Weis, P. Weis // Environmental Health Perspectives. – 1987. – Vol. 71. – P. 77-85. – DOI: 10.2307/3430456.
150. Wu, S. The interaction of microplastic and heavy metal in bioretention cell: Contributions of water-soil-plant system / S. Wu [et al.] // Environmental Pollution. – 2024. – Vol. 361. – P. 124-143. – DOI: 10.1016/j.envpol.2024.124143.
151. Yap, J. K. Advancement of green technologies: A comprehensive review on the potential application of microalgae biomass / J. K. Yap, R. Sankaran, K. W. Chew [et al.] // Chemosphere. – 2021. – Vol. 281. – P. 130-146. – DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130146.
152. Zarebanadkouki, M. Amorphous silica amendment to improve sandy soils' hydraulic properties for sustained plant root access under drying conditions / M. Zarebanadkouki, B. Hosseini, H. Gerke, J. Schaller // Frontiers in Environmental Science. – 2022. – Vol. 10. – P. 91-106.

Блок-схема планшетного аппликатного фитотестирования



Журнал планшетного аппликатного фитотестирования (примеры)

Дата анализа	06.07.2024	10.07.2024
Время	18:45	18:45

Условия	t, °C	p, кПа
0 ч	21	101.3
96 ч	22	100.3

Вид фитотестирования планшетное аппликатное

Культура тест-растения: горчица белая (<i>sinapis a.</i>)										
Шифр пробы	длина ростков / корней, см									
Уб контроль	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
росток	3.3	4.0	3.4	3.7	4.2	3.2	3.6	2.7	1.6	4.6
корень	6.8	6.2	5.8	7.1	6.8	5.7	5.1	4.6	4.9	5.7
Шифр пробы										
Л NaCl 0.3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
росток	0.7	2.2	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
корень	1.9	5.3	3.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Фотоизображения

Уб контроль

Л NaCl 0.3



Результаты планшетного аппликатного фитотестирования с применением тест-культуры горчица белая (*Sinapis a.*)

Дата анализа	03.08.2024	07.08.2024
Время	17:15	17:15

Условия	$t, ^\circ\text{C}$	p, kPa
0 ч	20	99.8
96 ч	21	100.1

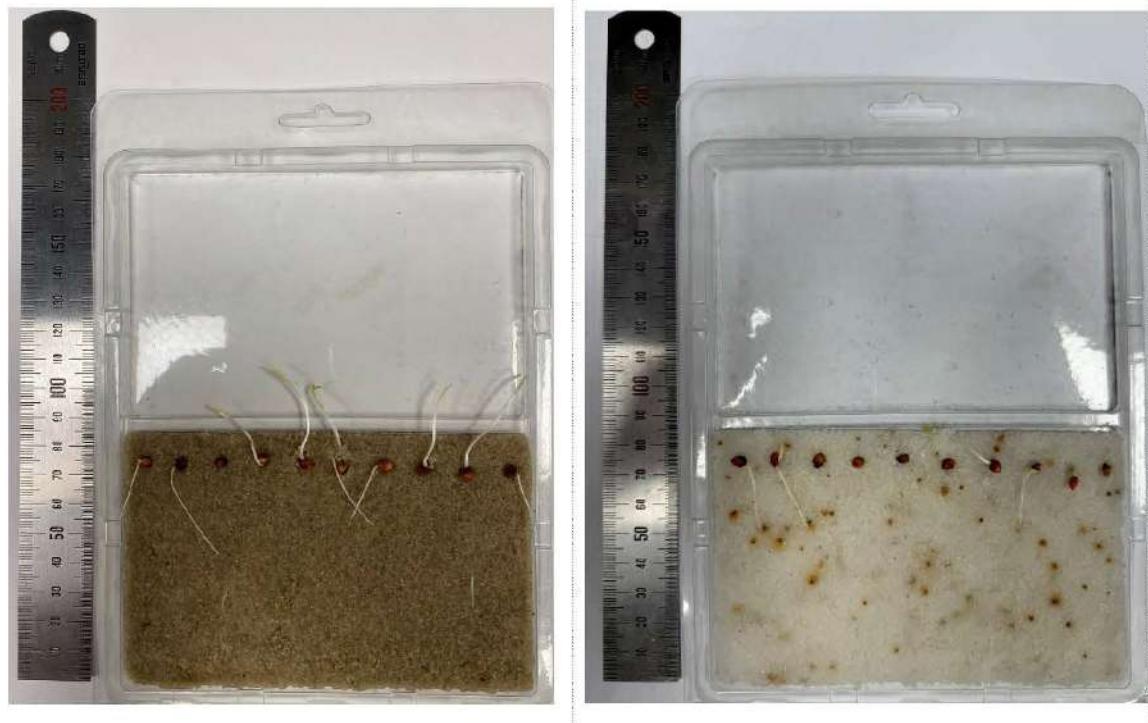
Вид фитотестирования планшетное аппликатное

Культура тест-растения: сорго сахарное (<i>sorghum s.</i>)										
Шифр пробы	длина ростков / корней, см									
P NaCl 0.1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
росток	0.1	0.3	2.7	3.6	3.0	0.0	2.9	4.0	0.1	0.0
корень	2.1	3.5	5.3	5.6	3.7	2.0	4.1	6.6	1.9	0.0

Шифр пробы	Фотоизображения									
УДТ 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
росток	0.4	0.6	0.4	2.8	0.2	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
корень	2.4	2.4	0.6	5.5	1.8	0.5	0.4	0.0	0.0	0.0

Р NaCl 0.1

УДТ 2



Результаты планшетного аппликатного фитотестирования с применением тест-культуры сорго сахарное (*Sorghum s.*)

Приложение 3

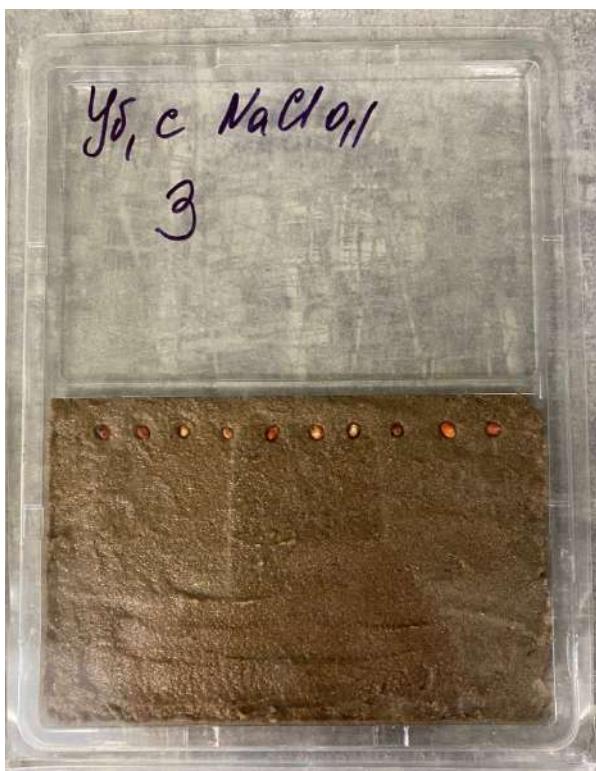
Планшетное аппликатное фитотестирование, характерные фотоизображения



Песок мелкий (aQ_{IV}) с семенами горчицы белой (*Sinapis a.*) перед экспозицией



Песок мелкий (aQ_{IV}) с проростками горчицы белой (*Sinapis a.*)



Песок мелкий (aQ_{IV}) с семенами сорго сахарного (*Sorghum s.*) перед экспозицией



Песок средней крупности (mK_{1-2}) с проростками сорго сахарного (*Sorghum s.*)

Приложение 3 (продолжение)



Песок крупный (afQ_{II}) с проростками горчицы белой (*Sinapis a.*)



Песок средней крупности (J_{2-3}) с проростками горчицы белой (*Sinapis a.*)



Песок средней крупности (J_{2-3}) с проростками сорго сахарного (*Sorghum s.*)



Песок крупный (afQ_{II}) с проростками сорго сахарного (*Sorghum s.*)

Приложение 4

Статистическая обработка результатов планшетного аппликатного фитотестирования методом ANOVA

Грунт	Тест-культура	Тест-параметр	Фактор	Сумма квадратов	Степени свободы	F-статистика	p-значение	η^2
Песок крупный однородный (a/Q_{II})	Горчица белая (<i>Sinapis a.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	2131,694	3	294,414	3E–134	0,369651
			Дизельное топливо	884,7619	7	52,37009	4,98E–63	0,153424
			Комбинированное	510,6006	21	10,07435	1,08E–29	0,088542
			Ошибка	2239,716	928			0,388383
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	270,0395	3	347,2252	3,9E–151	0,298142
			Дизельное топливо	206,0844	7	113,567	4,2E–120	0,227531
			Комбинированное	189,0457	21	34,72583	1,2E–101	0,20872
			Ошибка	240,5707	928			0,265607
	Сорго сахарное (<i>Sorghum s.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	55,10903	3	43,63437	2,21E–26	0,060634
			Дизельное топливо	298,5143	7	101,2965	7,2E–110	0,328439
			Комбинированное	164,5842	21	18,61642	3,06E–57	0,181083
			Ошибка	390,6797	928			0,429844
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	11,74545	3	25,51571	7,25E–16	0,047337
			Дизельное топливо	47,61507	7	44,33082	3,32E–54	0,191901
			Комбинированное	46,36897	21	14,39022	5,68E–44	0,186879
			Ошибка	142,393	928			0,573882
Песок средней крупности однородный (J_{2-3})	Горчица белая (<i>Sinapis a.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	723,2695	3	190,9328	2,02E–96	0,343277
			Дизельное топливо	149,8713	7	16,95595	3,55E–21	0,071132
			Комбинированное	62,03354	21	2,339424	0,000614	0,029442
			Ошибка	1171,781	928			0,556149
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	165,5872	3	234,2768	3,9E–113	0,355109
			Дизельное топливо	69,31667	7	42,03038	1,31E–51	0,148653
			Комбинированное	12,75858	21	2,578736	0,00013	0,027361
			Ошибка	218,6373	928			0,468877
	Сорго сахарное (<i>Sorghum s.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	191,1989	3	81,64519	7,03E–47	0,14426
			Дизельное топливо	341,3128	7	62,46275	1,33E–73	0,257521
			Комбинированное	68,46322	21	4,176424	1,33E–09	0,051656
			Ошибка	724,405	928			0,546564
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	49,10603	3	61,46956	2,98E–36	0,116967
			Дизельное топливо	72,10599	7	38,68297	8,88E–48	0,171751
			Комбинированное	51,50039	21	9,209535	9,34E–27	0,12267
			Ошибка	247,1163	928			0,588612

Приложение 4 (продолжение)

Грунт	Тест-культура	Тест-параметр	Фактор	Сумма квадратов	Степени свободы	F-статистика	p-значение	η^2
Песок средней крупности однородный (mK_{I-2})	Горчица белая (<i>Sinapis a.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	928,5431	3	259,226	3,6E–122	0,33102
			Дизельное топливо	468,7068	7	56,0791	5,61E–67	0,167091
			Комбинированное	299,8168	21	11,95733	5,23E–36	0,106883
			Ошибка	1108,027	928			0,395005
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	425,7836	3	264,6798	4,3E–124	0,256434
			Дизельное топливо	408,5233	7	108,8358	3,2E–116	0,246039
			Комбинированное	328,4763	21	29,17009	2,46E–87	0,19783
			Ошибка	497,6167	928			0,299697
	Сорго сахарное (<i>Sorghum s.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	136,6946	3	36,66613	2,14E–22	0,065256
			Дизельное топливо	508,8499	7	58,49608	1,64E–69	0,242919
			Комбинированное	295,9639	21	11,34108	5,91E–34	0,14129
			Ошибка	1153,222	928			0,550535
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	78,40737	3	33,39936	1,67E–20	0,054822
			Дизельное топливо	315,2551	7	57,55282	1,59E–68	0,220425
			Комбинированное	310,3721	21	18,88713	4,57E–58	0,217011
			Ошибка	726,182	928			0,507743
Песок мелкий однородный (aQ_{IV})	Горчица белая (<i>Sinapis a.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	1300,272	3	252,7314	7,4E–120	0,326039
			Дизельное топливо	689,5168	7	57,43719	2,1E–68	0,172894
			Комбинированное	406,8181	21	11,29607	8,36E–34	0,102008
			Ошибка	1591,482	928			0,399059
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	425,7836	3	264,6798	4,3E–124	0,256434
			Дизельное топливо	408,5233	7	108,8358	3,2E–116	0,246039
			Комбинированное	328,4763	21	29,17009	2,46E–87	0,19783
			Ошибка	497,6167	928			0,299697
	Сорго сахарное (<i>Sorghum s.</i>)	Длина корня	P–p <i>NaCl</i>	136,6946	3	36,66613	2,14E–22	0,065256
			Дизельное топливо	508,8499	7	58,49608	1,64E–69	0,242919
			Комбинированное	295,9639	21	11,34108	5,91E–34	0,14129
			Ошибка	1153,222	928			0,550535
		Длина ростка	P–p <i>NaCl</i>	78,40737	3	33,39936	1,67E–20	0,054822
			Дизельное топливо	315,2551	7	57,55282	1,59E–68	0,220425
			Комбинированное	310,3721	21	18,88713	4,57E–58	0,217011
			Ошибка	726,182	928			0,507743