

ИССЛЕДОВАНИЯ УДАЛЕНИЯ НЕФТЕСОДЕРЖАЩИХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Иваненко И. И., Лапатина Е. Я., Красавина Т. А.

STUDIES OF OIL-CONTAINING POLLUTION REMOVAL BY MICROORGANISMS

Ivanenko I. I., Lapatina E. Ya., Krasavina T. A.

Аннотация

Введение. Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами — результат технического прогресса и деятельности человека. Попадание нефтепродуктов в окружающую среду с промышленными и ливневыми водами, техногенные катастрофы, сопровождающиеся разливами нефти, пагубно влияют на биocenоз различных природных экосистем и нуждаются в разработке новейших экологически безвредных методов охраны окружающей среды от этих загрязнений. **Методы.** Предметом данных исследований явились естественные процессы в технологиях биологической очистки воды, которые базируются на способности бактерий использовать нефтепродукты и элементы с переменной валентностью как окислители органических соединений. Исследования включали аналитическое обобщение известных научных и технических результатов, проведение обзора литературных источников и патентный поиск, лабораторные исследования по стандартным и современным методикам. **Результаты.** Результатом работы явилось установление возможности прикрепленных ассоциаций микроорганизмов-деструкторов разрушать углеродсодержащие продукты и определение ориентировочного времени обработки в зависимости от температуры проведения процесса очистки, а также установление по показателю степени гидрофобности последовательности активности штаммов родов бактерий, участвующих в процессах разложения нефтепродуктов. Установление данной последовательности позволит более успешно определять и подбирать соотношения микроорганизмов-деструкторов в пространственных сообществах, создаваемых для ведения процессов биологической очистки.

Ключевые слова: нефтепродукты, микроорганизмы-деструкторы, скорость разложения, гидрофобность, прикрепленные микроорганизмы, последовательность активности штаммов

Abstract

Introduction. Environmental pollution with oil and petroleum products is a result of technological progress and human activities. The release of petroleum products into the environment with industrial and storm water, as well as man-made disasters accompanied by oil spills, adversely affect the biocenosis of various natural ecosystems and require the development of new environmentally-friendly methods to protect the environment against this pollution. **Methods.** The scope of the studies is natural processes in biological water treatment technologies, which are based on the ability of bacteria to use petroleum products and elements with mixed valence as oxidizing agents of organic compounds. The studies included an analytical compilation of available scientific and technical results, a review of literature, patent searches, and laboratory studies using standard and modern techniques. **Results.** As a result of the research, the authors established the possibility of attached associations of microorganisms- destructors to destroy carbon-containing products, determined the approximate processing time depending on the treatment temperature, and identified the sequence of activity of bacterial genera strains involved in the decomposition of petroleum products by the degree of hydrophobicity. The identification of this sequence will make it possible to determine and select the ratios of microorganisms- destructors in spatial successions, created for biological treatment processes, more successfully.

Keywords: petroleum products, microorganisms- destructors, decomposition rate, hydrophobicity, attached microorganisms, strain activity sequence

Введение

Нефтепродукты относятся к числу наиболее распространенных загрязняющих веществ в воде всех водоемов на планете [10, 14]. Токсичность нефти пропорциональна содержанию в ней аро-

матических и легких фракций [2–4, 18], потому, низкомолекулярные углеводороды загрязненной воды оказывают на гидробионтов меньшее влияние и негативный эффект. Роль микроорганизмов в процессах превращения углеводородов нефти

в природе трудно переоценить. Микроорганизмы — сборная систематическая группа организмов, большинство представителей которой имеют высокую способность использовать углеводороды как единственный источник углеродного питания и энергии [1, 5, 9]. Хорошо известно, что биосфера, в частности гидросфера, интенсивно самоочищается от нефтепродуктов, расщепляя и трансформируя их с помощью микроорганизмов [15, 16]. В процессах деструкции углеводородов в природе принимают участие ассоциации микроорганизмов из разных таксономических групп. Известно больше ста родов бактерий, дрожжей и грибов, которые способны усваивать углеводороды. Большинство из них выделено из водных бассейнов, пластовых вод нефтяных хранилищ, почв, загрязненных нефтепродуктами. Это бактерии родов *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Chromobacterium*, *Corinebacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Flavobacterium* [19, 20]. Они могут быть постоянными и доминирующими компонентами микробиоценозов нефтезагрязненных экосистем. К наиболее активным деструкторам углеводородов в пресных водоемах принадлежат виды: *Rhodococcus erythropolis*, *R. luteus*, *R. rubropertinctus*, *R. ruber*, *R. opacus*, *Micrococcus sp.*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas Fluorescens*. Для представителей родов *Rhodococcus* и *Mycobacterium* характерна высокая удельная нефтеокисляющая активность. Штаммы этих бактерий стойки к резким колебаниям факторов окружающей среды и стабильно сохраняют численность популяции и высокую биодеструктивную активность после длительного хранения как в жидкой среде, так и в высушенном состоянии. Основная экологическая функция родококков — ассимиляция естественных и антропогенных газообразных ($C_3 - C_4$) жидких ($C_5 - C_{16}$) n-алканов и ароматических углеводородов [7].

Для интенсификации биохимической очистки нефтесодержащих сточных вод в последнее время широко используют прикрепленные микроорганизмы. Возможности иммобилизованных клеток микроорганизмов-деструкторов огромные. Прикрепленные микроорганизмы значительно интенсивнее обезвреживают нефтепродукты, чем свободноплавающие. Так, например, при

использовании для иммобилизации селекционированных микроорганизмов-деструкторов на волокнистых носителях эффективность деструкции нефтепродуктов увеличивалась на 67–83 % в сравнении с применением незакрепленных ассоциаций. Использование закрепленного биоценоза селекционированных микроорганизмов-деструкторов органических загрязнений дает возможность создать непрерывно действующий стабильный процесс, стойкий к неблагоприятным условиям окружающей среды [8, 12].

Работа [13] также свидетельствует, что иммобилизованный активный ил интенсивнее разрушает нефтепродукты, чем свободноплавающие микроорганизмы. За 20 часов прикрепленный биоценоз трансформировал от 66 до 98 % углеводородов, тогда как свободноплавающий — лишь 25–60 %. Достижениями деструктивной активности выделенных из сточных вод нефтеперерабатывающего завода нефтеокисляющих штаммов выявлено преимущество в использовании иммобилизованных на носителях микроорганизмов [6, 11].

Улучшение показателей биологического снижения сточных вод от нефтепродуктов с помощью активного ила возможно при добавлении сбалансированного по биогенным элементам, частично минерализованного ила [12], питательных веществ, применение аэрации и тому подобное. Максимальная же интенсификация процесса обработки воды происходит при инокуляции очистного сооружения или загрязненных водоемов ассоциациями селекционированных нефтеокисляющих микроорганизмов [7, 14].

Однако современные технологии биологической очистки воды должны быть основаны не только на применении селекционированных микроорганизмов-деструкторов, но и на их пространственном размещении в биореакторах. При использовании гидробионтов, которые иммобилизованы на регулярных волокнистых носителях, обеспечивается их распределение в очистном сооружении согласно трофическим уровням и типам питания очищающих микроорганизмов. Благодаря этому достигается глубокое очищение загрязненных нефтепродуктами сточных вод [13, 18].

Из разных источников — загрязненной нефтью почвы, нефтешламов, ила водоемов, по-

крытых нефтепродуктами — выделены ассоциации бактерий, которые способны утилизировать сырую нефть и нефтепродукты в мезофильных и психрофильных условиях. Бактерии-деструкторы способны утилизировать широкий круг алифатических и ароматических углеводов. По отношению к n-алканам наиболее активными являются представители родов *Acinetobacter* и *Arthrobacter*.

По результатам проведенного литературного анализа были отобраны штаммы микроорганизмов, которые используют нефть и нефтепродукты как единственный источник углерода и энергии при концентрации последних в воде до 20–40 мг/дм³. Для опытов использовались штаммы из различных коллекций микроорганизмов. По совокупности морфолого-культуральных и физиолого-биохимических свойств отобранные культуры бактерии отнесены к родам: *Pseudomonas* (5 штаммов), *Acinetobacter* (2 штамма), *Arthrobacter* (2 штамма), *Micrococcus* (2 штамма), *Rhodococcus* (1 штамм), *Flavobacterium* (1 штамм).

В ходе выполнения исследований:

1) были проведены лабораторные опыты по изучению скорости усвоения нефтепродуктов wybranными штаммами;

2) в ходе лабораторного изучения получены данные по гидрофильно-гидрофобным свойствам поверхности клеток деструкторов;

3) проведена корреляция между степенью гидрофобности поверхности клетки и скоростью потребления субстрата;

4) изучена связь гидрофобных и адгезивных свойства выделенных штаммов-деструкторов нефтепродуктов с их способностью проводить процесс удаления нефти с поверхности твердого тела (песка и тефлона).

Методы и материалы

В процессе работы были использованы следующие методики проведения исследований.

1. Определение степени гидрофобности бактериальных клеток

Определяли методом солевой агрегации SAT (Salt Aggregation Test) [21].

Готовили растворы $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в различных концентрациях в 0,001 М фосфатном буфере. Раствор сульфата аммония и суспензию штаммов смешивали на предметном стекле в равных

количествах и через 1 мин проводили фиксацию агрегатов методом фазово-контрастной микроскопии. Минимальную концентрацию $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, при которой наблюдалось образование клеточных агрегатов, принимали за условное значение степени гидрофобности бактериальных клеток.

2. Определение адгезивной активности штаммов

В отношении твердых поверхностей проводили по методу В. Huber и его соавторов [17]: суспензию бактериальных клеток в фосфатном буфере (200 мкл) инкубировали в микропланшетном шейкере-инкубаторе Titramax 2000 (Heidolph-Instruments, Германия) при 130 об/мин и 25°C в течение 24–48 ч. Неадгезированные штаммы отмывали фосфатным буфером, прикрепленные клетки окрашивали 1%-м водным раствором кристаллического фиолетового (хч, Реахим, Пермь) и промывали дважды тем же буфером. Краситель экстрагировали смесью ацетон–этанол (1:4), после чего измеряли оптическую плотность экстракта с помощью фотометра при 630 нм, использовались калибровочные графики. Степень адгезии определяли как процентное соотношение числа прикрепленных клеток к начальному числу клеток.

3. Культивирование штаммов

Культивирование штаммов проводили в колбах Эрленмейера со 100 мл минеральной среды Эванса с добавлением нефти, дизельного топлива или иных углеродсодержащих загрязнителей до конечной концентрации 2, 10, 15, 20, 30 или 40 % весовых (по объему). Инокулирование питательной среды колб проводили суспензией микроорганизмов (посевная доза 1–5×10⁶ кл/мл). Далее колбы помещали на качалку (120–150 об/мин) и выращивали микроорганизмы в течение 3–22 суток при 25 °С и в течение 5–13 суток при 4 °С.

4. Определение эффективности очистки от нефтепродуктов

1. Степень разложения нефти исследуемыми штаммами оценивали по суммарному показателю убыли нефти в жидкой среде, определяемому весовым методом (гравиметрия) и в части опытов (при содержании нефтепродуктов менее 0,3 мг/л) — при помощи атомно-адсорбционного метода.

Таблица 1

Скорость усвоения углеводов штамма-ми-деструкторами в контактных опытах (температура — 4–7 °С)

Штамм-деструктор	Скорость удаления углеводорода, в долях единицы от начального содержания			
	1 час	6 часов	12 часов	48 часов
Опыт 1. Бензин — C₇H₁₇				
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	0,99	0,97	0,82	0,61
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	0,97	0,86	0,75	0,54
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	0,99	0,84	0,70	0,44
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	0,91	0,83	0,75	0,51
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	0,97	0,95	—	0,63
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	0,96	0,84	0,84	0,72
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	0,99	0,99	0,87	0,82
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	0,99	0,99	0,79	0,75
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	0,97	0,99	0,85	0,81
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	0,96	0,91	0,85	0,81
<i>Micrococcus sp. 1</i>	0,94	0,95	0,87	0,83
<i>Micrococcus sp. 2</i>	0,99	0,96	0,94	0,90
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	0,99	—	0,97	0,96
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	0,99	0,97	0,97	0,83
Опыт 2. Пентан — C₅H₁₂				
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	0,99	0,97	0,87	0,73
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	0,99	—	0,85	0,74
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	—	0,86	0,82	0,69
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	0,95	0,83	0,85	0,71
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	0,97	0,97	—	0,73
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	0,99	0,94	0,84	0,82
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	0,99	0,99	0,83	0,82
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	0,99	0,85	0,86	0,78
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	0,99	0,99	0,93	0,91
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	0,96	0,91	0,85	0,81
<i>Micrococcus sp. 1</i>	0,94	0,95	0,87	0,83
<i>Micrococcus sp. 2</i>	0,99	0,96	0,94	0,90
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	0,99	—	0,99	1,00
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	0,99	0,97	0,97	0,83
Опыт 3. Бензол				
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	0,99	0,97	0,87	0,73
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	0,99	—	0,85	0,74
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	0,99	0,86	0,82	0,69
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	0,99	0,83	0,85	0,71
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	—	0,86	—	0,73
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	0,99	0,94	0,84	0,74
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	0,99	0,99	0,83	0,74
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	0,99	0,88	0,81	0,78
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	0,99	0,99	0,92	0,91
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	0,96	0,89	0,85	0,81
<i>Micrococcus sp. 1</i>	0,94	0,93	0,87	0,83
<i>Micrococcus sp. 2</i>	—	0,96	0,95	0,92
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	0,99	0,94	0,99	0,87
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	0,99	0,96	0,93	0,69

2. Для определения общего содержания углеводов нефти использовали метод ИК-спектроскопии.

Результаты исследования и обсуждение

1. В ходе контактных лабораторных опытов (табл. 1) установлено, что скорость усвоения субстрата выбранными штаммами зависела от длины углеродной цепи исследуемого вещества. Субстраты с длиной углеродной цепи C₇ и больше (октан C₈H₁₈, бензин) усваивались быстрее, чем пентан (C₅H₁₂) или гексан (C₆H₁₄). В психрофильных условиях n-алканы наиболее активно потреблялись штаммами *Acinetobacter 1* и *Acinetobacter 2*. Ароматический углеводород, бензол лучше всего утилизировался представителями рода *Pseudomonas*. Скорость деструкции ароматических углеводов представителями родов *Acinetobacter* и *Arthrobacter* была близкой к скорости деструкции штаммами рода *Pseudomonas*.

2. Принимая во внимание, что скорость усвоения нефти и нефтепродуктов зависит от свойства поверхности клеток бактерий, были изучены гидрофильно-гидрофобные свойства поверхности клеток-деструкторов. Распределение штаммов по степени гидрофобности клеточной поверхности, полученное в ходе эксперимента, представлено в табл. 2.

3. При деструкции алканов с длиной углеродной цепи 12 и больше наблюдается корреляция между степенью гидрофобности поверхности клетки и скоростью потребления субстрата. Например, n-гексадекан (2 г/дм³) утилизировался штаммом *Acinetobacter sp. 1* за 24 часа, в то время как *Pseudomonas sp. 3* усваивал его только за 56 часов. При деструкции загрязнения с длиной углеродной цепью C₇ и C₉ скорость деструкции этими штаммами была равной. Такая же закономерность сохраняется и при культивировании штаммов в психрофильных условиях. Среди выделенных бактерий один штамм из рода *Acinetobacter* и один штамм из рода *Pseudomonas* синтезировали и продуцировали в культуральную среду экзополимеры, которые эмульгировали нефть и нефтепродукты. При выращивании на твердой среде *Acinetobacter sp. 1* в психрофильных условиях продуцировал экзополимер, причем количество его увеличивалось с увеличением длины углеродной цепи субстрата. Выде-

Таблица 2
Распределение штаммов по степени гидрофобности

(NH ₄) ₂ SO ₄ , минимальная концентрация сульфата аммония, при которой образуются клеточные агрегаты	0,2	1,4
<i>Pseudomonas</i>	5	8,6
<i>Acinetobacter</i>	8,2	10,4
<i>Arthrobacter</i>	13	13,6
<i>Rhodococcus</i>	42	43,1
<i>Micrococcus</i>	56,3	78,6
<i>Arthrobacter</i>	86,2	93,4

ленный экзополимер использовался бактериями-деструкторами как дополнительный источник углерода и энергии. Путем сбора и центрифугирования был выделен неочищенный препарат экзополимера. Препарат имеет поверхностно-активные свойства и уменьшает поверхностное натяжение воды. При внесении препарата в колбу с водным раствором, который покрыт нефтепродуктами, и перемешивании происходит «растворение» нефтепродуктов в воде (эмульгирование). Неочищенный препарат высушивали при 105°C, потом растворяли в воде — препарат при этом не терял поверхностно-активных свойств. Экзопполимер, который продуцировался штаммом *Pseudomonas sp. 3*, при выращивании на твердых средах собирался значительно тяжелее, но он также имеет поверхностно-активные свойства. Исследована способность клеток *Pseudomonas sp. 3*, *Acinetobacter sp. 1* и *Rhodococcus sp. 1* к адгезии на гидрофобных поверхностях. Прилипание клеток этих организмов определяли также путем микроскопирования поверхностей из стекла и капрона после недолговременного контакта с суспензией соответствующей культуры. Результаты показали, что клеток *Acinetobacter sp. 1* прилипло к поверхности в значительно большем количестве, чем клеток двух других культур.

4. Было также интересно выяснить, связаны ли гидрофобные и адгезивные свойства выделенных штаммов-деструкторов нефтепродуктов с их способностью проводить процесс удаления нефти с поверхности твердого тела. Результаты этих опытов представлены в табл. 3 и 4.

По проведенным исследованиям можно сформулировать следующие выводы:

Таблица 3
Микробное отделение нефти от речного песка

Штамм-деструктор	Время отслаивания, ч	
	4 °С	30 °С
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	28	21
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	60	60
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	18	14
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	Не отделяет	60
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	28	28
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	60	28
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	3	3
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	3	5
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	7	2
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	10	3
<i>Micrococcus sp. 1</i>	Не отделяет	Не отделяет
<i>Micrococcus sp. 2</i>	Не отделяет	60
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	28	28
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	Не отделяет	60

1. Интродукция в загрязненную углеводородами воду прикрепленных ассоциаций микроорганизмов-деструкторов, способных минерализовать алифатические, ароматические углеводороды и их производные, приводит к существенной интенсификации очистки воды и обеспечивает стабильность этого биологического процесса.

2. Опыты по микробному отделению нефтепродуктов от песка и тефлоновой поверхности позволили установить возможность такого рода деструкции и ориентировочное время обработки

Таблица 4
Микробное отделение нефти от тефлонового волокна

Штамм-деструктор	Время отслаивания, ч	
	4 °С	30 °С
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	48	22
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	32	32
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	16	14
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	Не отделяет	50
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	29	32
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	60	21
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	Не отделяет	Не отделяет 3
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	Не отделяет	5
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	17	1
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	124	1
<i>Micrococcus sp. 1</i>	Не отделяет	Не отделяет
<i>Micrococcus sp. 2</i>	17	60
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	19	27
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	Не отделяет	65

в зависимости от температуры проведения процесса очистки.

3. По показателю степени гидрофобности штаммы бактерий, участвующие в процессах разложения нефтепродуктов, можно разместить в такой ряд:

Pseudomonas < *Acinetobacter* < *Flavobacterium* < *Rhodococcus* < *Micrococcus* < *Arthrobacter*.

Установление данной последовательности позволит более успешно подбирать соотношения микроорганизмов-деструкторов в пространственных селекционных сообществах микроорганизмов (селекционированных биоценозах), создаваемых для ведения процессов биологической очистки сточных вод.

На следующих этапах работы по данной теме планируется проведение исследований параметров биотехнологической очистки углеродсодержащих производственных и ливневых сточных вод интенсифицированных при помощи микроорганизмов-деструкторов с учетом проведенных лабораторных исследований и расположения их в специальных пространственных селекционных сообществах микроорганизмов (селекционированных биоценозах) с учетом физиологических потребностей и возможностей жизнедеятельности.

Финансирование

Работа выполнена на средства гранта, предоставленного для исследований руководством Санкт-Петербургского архитектурно-строительного университета в 2019/2020 году (рег. № АА-АА-А19-119092390023-1).

Литература

1. Ветрова, А. А. (2010). Биодegradация углеводородов нефти плазмидосодержащими микроорганизмами-деструкторами. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. М.: МГУ.
2. Госстандарт России (2002). ГОСТ Р 51858–2002. Нефть. Общие технические условия. М.: ИПК Издательство стандартов, 12 с.
3. Госстандарт СССР (2005). ГОСТ 28549.0–90. Смазочные материалы, промышленные масла и родственные продукты. (Класс L). Классификация групп. М.: Стандартинформ, 5 с.
4. Госстандарт СССР (2006). ГОСТ 28576–90. Нефтепродукты и смазочные материалы. Общая классификация. Обозначение классов. М.: Стандартинформ, 2 с.
5. Держинская, И. С., Сопрунова, О. Б., Батаева, Ю. В., Петровичева, Е. В., Райская, Г. Ю. (2008). Перспектива использования цианобактерий в биоремедиации территорий

нефтегазового комплекса. Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе, № 5, сс. 51–54.

6. Залетова, Н. А., Попов, В. В. и Башкатова, Л. В. (1995). Способ биологической очистки сточных вод. Патент № RU2035402C1.

7. Ившина, И. Б., Бердичевская, М. В., Зверева, Л. В., Рыбалка, Л. В., Еловинова, Е. А. (1995). Фенотипическая характеристика алканотрофных родококков из различных экосистем. Микробиология, Т. 64, № 4, сс. 507–513.

8. Изжеурова, В. В., Павленко, Н. И. и Раилко, З. А. (1991). Направленная селекция биоценоза активного ила, разрушающего нефтепродукты. Химия и технология воды, Т. 13, № 1, сс. 76–79.

9. Коронелли, Т. В., Дермичева С. Г. и Семенов М. Н. (1988). Определение удельной углеводородокисляющей активности родококков и псевдомонад. Прикладная биохимия и микробиология, Т. 24, № 2, сс. 203–206.

10. Леффлер, У. Л. (2005). Переработка нефти. Пер. с англ. М.: Олимп-Бизнес, 224 с.

11. Назаров, А. В., Иларионов, С. А., Горелов, В. В., Калачникова, И. Г., Шукин, В. М., Наргович, Ю. К. и Басов, В. Н. (2005). Способ биорекультивации нефтезагрязненных почв. Патент № RU2253209C1.

12. Павленко, Н. И., Изжеурова, В. В. и Прудкая, И. И. (1993). Очистка сточных вод от нефтепродуктов с использованием биогенных добавок. Микробиологический журнал, Т. 55, № 2, сс. 94–98.

13. Сиденко, В. П., Мордвинова, Д. И. и Яроцкая, Н. Е. (1986). Использование иммобилизованных культур микробов-деструкторов для доочистки нефтесодержащих вод. Микробиологический журнал, Т. 48, № 5, сс. 26–29.

14. Степанов, В. Н. (1994). Мировой океан: динамика и свойства вод. М.: Знание, 255 с.

15. Суржко, Л. Ф., Финкельштейн, З. И., Баскунов, Б. П., Янкевич, М. И., Яковлев, В. И. и Головлева, В. А. (1995). Утилизация нефти в почве и воде микробными клетками. Микробиология, Т. 64, № 3, сс. 393–398.

16. Тимергазина, И. Ф. и Переходова, Л. С. (2012). К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами. Нефтегазовая геология. Теория и практика, Т. 7, № 1, 16_2012.

17. Huber, B., Riedel, K., Hentzer, M., Heydom, A., Gotschlich, A., Givskov, M., Molin, S. and Eberl, L. (2001). The *cep* quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility. *Microbiology*, Vol. 147, Issue 9, pp. 2517–2528. DOI: 10.1099/00221287-147-9-2517.

18. Lovley, D. R. and Lonergan, D. J. (1990). Anaerobic oxidation of toluene, phenol and *p*-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism, GS-15. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 56, No. 6, pp. 1858–1864.

19. Mulligan, C. N. (2005). Environmental applications for biosurfactants. *Environmental Pollution*, Vol. 133, Issue 2, pp. 183–198. DOI: 10.1016/j.envpol.2004.06.009.

20. Puntus, I. F., Sakharovsky, V. G., Filonov, A. E. and Boronin, A.M. (2005). Surface activity and metabolism of hydrocarbon-degrading microorganisms growing on hexadecane and naphthalene. *Process Biochemistry*, Vol. 40, Issue 8, pp. 2643–2648. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.11.006.

21. Sorongon, M. L., Bloodgood, R. A. and Burchard, R. P. (1991). Hydrophobicity, adhesion, and surface-exposed proteins of gliding bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 57, No. 11, pp. 3193–3199.

References

1. Vetrova, A. A. (2010). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by plasmid-containing microorganisms-destroyers. Author's abstract of PhD Thesis in Biology. Moscow: Moscow State University.
2. Gosstandart of Russia (2002). State Standard GOST R 51858–2002. Crude petroleum. General specifications. Moscow: IPK Izdatelstvo Standartov, 12 p.
3. Gosstandart of the USSR (2005). State Standard GOST 28549.0-90. Lubricants, industrial oils and related products. (Class L). Classification of families. Moscow: Standartinform, 5 p.
4. Gosstandart of the USSR (2006). State Standard GOST 28576-90. Petroleum products and lubricants. General classification. Designation of classes. Moscow: Standartinform, 2 p.
5. Dzerzhinskaya, I. S., Soprunova, O. B., Bataeva, Yu. V., Petrovicheva, E. V., Raikaya, G. Yu. (2008). The prospect for cyanobacteria use in bioremediation of oil and gas complex territories. *Environment Protection in Oil and Gas Complex*, No. 5, pp. 51–54.
6. Zaletova, N. A., Popov, V. V. and Bashkatova, L. V. (1995). Biological sewage water treatment. Patent No. RU2035402C1.
7. Ivshina, I. B., Berdichevskaya, M. B., Zvereva, L. V., Rybalka, L. V. and Yelovikova, Ye. A. (1995). Phenotypic characterization of alkanotrophic rhodococci from various ecosystems. *Mikrobiologiya*, Vol. 64, No. 4, pp. 507–513.
8. Izzheurova, V. V., Pavlenko, N. I. and Railko, Z. A. (1991). Directional selection of the biocenosis of activated sludge destroying petroleum products. *Khimiya i Tekhnologiya Vody*, Vol. 13, No. 1, pp. 76–79.
9. Koronelli, T. V., Dermicheva, S. G. and Semenenko, M. N. (1988). Determination of the specific hydrocarbon-oxidizing activity of rhodococci and pseudomonads. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya*, Vol. 24, No. 2, pp. 203–206.
10. Leffler, W. L. (2005). Petroleum refining. Translated from English. Moscow: Olimp-Biznes, 224 p.
11. Nazarov, A. V., Ilarionov, S. A., Gorelov, V. V., Kalachnikova, I. G., Shchukin, V. M., Nargovich, Yu. K. and Basov, V. N. (2005). Method for biological recultivation of petroleum-contaminated soil. Patent No. RU2253209C1.
12. Pavlenko, N. I., Izzheurova, V. V. and Prudkaya, I. I. (1993). Wastewater treatment with removal of petroleum products using biogenic additives. *Microbiological Journal*, Vol. 55, No. 2, pp. 94–98.
13. Sidenko, V. P., Mordvinova, D. I. and Yarotskaya, N. E. (1986). Use of immobilized cultures of microbes-destroyers for post treatment of oily waters. *Microbiological Journal*, Vol. 48, No. 5, pp. 26–32.
14. Stepanov, V. N. (1994). World Ocean: dynamics and properties of waters. Moscow: Znaniye, 255 p.
15. Surzhko, L. F., Finkelshtein, Z. I., Baskunov, B. P., Yankevich, M. I., Yakovlev, V. I. and Golovlyova, L. A. (1995). Utilization of oil in soil and water by microbial cells. *Mikrobiologiya*, Vol. 64, No. 3, pp. 393–398.
16. Timergazina, I. F. and Perekhodova, L. S. (2012). Biological oxidation of oil and petroleum products using hydrocarbon-oxidizing microorganisms. *Petroleum Geology – Theoretical and Applied Studies*, Vol. 7, No. 1, 16_2012.
17. Huber, B., Riedel, K., Hentzer, M., Heydorn, A., Gotschlich, A., Givskov, M., Molin, S. and Eberl, L. (2001). The csp quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility. *Microbiology*, Vol. 147, Issue 9, pp. 2517–2528. DOI: 10.1099/00221287-147-9-2517
18. Lovley, D. R. and Lonergan, D. J. (1990). Anaerobic oxidation of toluene, phenol and *p*-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism, GS-15. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 56, No. 5, pp. 1858–1864.
19. Mulligan, C. N. (2005). Environmental applications for biosurfactants. *Environmental Pollution*, Vol. 133, Issue 2, pp. 183–198. DOI: 10.1016/j.envpol.2004.06.009.
20. Puntus, I. F., Sakharovsky, V. G., Filonov, A. E. and Boronin, A. M. (2005). Surface activity and metabolism of hydrocarbon-degrading microorganisms growing on hexadecane and naphthalene. *Process Biochemistry*, Vol. 40, Issue 8, pp. 2643–2648. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.11.006.
21. Sorongon, M. L., Bloodgood, R. A. and Burchard, R. P. (1991). Hydrophobicity, adhesion, and surface-exposed proteins of gliding bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 57, No. 11, pp. 3193–3199.

Авторы

Ирина Ивановна Иваненко, канд. техн. наук, доцент Санкт-Петербургский государственный архитектурно-строительный университет, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: i5657@mail.ru

Лапатина Елена Яковлевна

Санкт-Петербургский государственный архитектурно-строительный университет, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: ms.ayka.a@bk.ru

Красавина Татьяна Ануфреевна

ООО «Вода: консалтинг и технологии», Санкт-Петербург, Россия
E-mail: KrasavinaTA_water@mail.ru

Authors

Irina Ivanovna Ivanenko, PhD in Engineering, Associate Professor
Saint Petersburg State University of Architecture and Civil Engineering, Saint Petersburg, Russia
E-mail: i5657@mail.ru

Lapatina Elena Yakovlevna

Saint Petersburg State University of Architecture and Civil Engineering, Saint Petersburg, Russia
E-mail: ms.ayka.a@bk.ru

Krasavina Tatyana Anufreevna

LLC Water: consulting and technology, Saint Petersburg, Russia
E-mail: KrasavinaTA_water@mail.ru