

УДК 57.083.12:502.65:665.6

Рогозина Е.А., Тимергазина И.Ф., Моргунов П.А.Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский нефтяной научно-исследовательский геологоразведочный институт» (ФГУП «ВНИГРИ»), Санкт-Петербург, Россия, ins@vnigri.ru

ОЧИСТКА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ БАКТЕРИЯМИ РОДА *PSEUDOMONAS* – ОСНОВОЙ БИОПРЕПАРАТОВ НАФТОКС 12-Р И НАФТОКС 48-У

*Приведена сравнительная характеристика двух вновь созданных биопрепаратов НАФТОКС 12-Р (*Pseudomonas aeruginosa*) и НАФТОКС 48-У (*Pseudomonas citronelollis*) по эффективности очистки почвы от дизельного топлива и нефти в лабораторных условиях. За 7 месяцев проведения опытов, дизельное топливо окислилось на 85,5 – 85,8% от исходного (~2% вес.) содержания в почве. Входящие в его состав фракции масел окислились на 91,6 и 92,3%, бензольных смол – 41,0 и 27,7%, спиртобензольных смол – 39,8 и 37,5%, асфальтенов – 44,3 и 23,8% от исходного содержания. Метано-нафтенновые углеводороды снизились на 92,0 и 92,3%, ароматические углеводороды на 84,3 – 100% и на 89,3 – 100% от исходного их содержания, соответственно, при внесении в нефтезагрязненную почву биопрепаратов НАФТОКС 12-Р и НАФТОКС 48-У. Биоокисление нефтяного загрязнения сопровождалось новообразованием промежуточных продуктов окисления. Рассмотрены принципиальные основы инновационной технологии очистки нефтезагрязненных почв с использованием биопрепаратов серии НАФТОКС.*

Ключевые слова: *нефтезагрязненная почва, биоочистка, биопрепараты НАФТОКС, эффективность очистки почвы, технология очистки почв.*

В настоящее время при очистке нефтезагрязненных почв широкое применение нашли биотехнологии, основанные на способности углеводородоокисляющих микроорганизмов (УОМ) использовать нефть и нефтепродукты в качестве единственного источника углерода. Согласно существующим технологиям, деструкторами нефтяного загрязнения могут выступать УОМ-аборигены, сохранившиеся в загрязненной почве, или специально вносимые в виде биопрепарата культуры УОМ. Последний вариант биотехнологии наиболее востребован. На сегодняшний день практика нефтеечистных работ располагает достаточным количеством различных марок биопрепаратов, основу которых составляют монокультура или ассоциация нескольких видов УОМ.

Сравнительная характеристика ряда используемых в практике очистных работ биопрепаратов показала, что они различаются по составу используемых УОМ, эффективности окисления различных типов нефтяного загрязнения, форме производства и условий, необходимых для поддержания жизнедеятельности, находящихся в них микроорганизмов [Акопова, 2008; Биопрепараты серии..., 1995; Рогозина, Андреева и др., 2010].

Изложенное выше не закрывает проблему поиска наиболее активных штаммов УОМ и создания на их основе новых марок биопрепаратов, способных к деструкции как широкого спектра углеводов в составе нефтяного загрязнения, так и к избирательной деструкции отдельных их классов.

В 90-х годах прошлого столетия во ВНИГРИ в результате научно-исследовательских и экспериментально-практических работ по проблеме нефтяной экологии, включая очистку природных экосистем от загрязнения нефтью и нефтепродуктами, получены следующие результаты:

- созданы биопрепараты серии НАФТОКС на основе живых активных штаммов УОМ;
- проведено тестирование биопрепаратов в лабораторных и полигонных условиях на активность очистки почвы и поверхности водоемов от нефтяного загрязнения;
- разработаны технология и регламент лабораторного и полупромышленного производства биопрепаратов;
- разработаны основы технологии проведения очистных работ, включающей предварительную оценку нефтеэкологической ситуации на очищаемой территории;
- создана схема проведения мониторинга процесса очистки по результатам детального комплексного химико-битуминологического, микробиологического и агрохимического исследования образцов очищаемой почвы. Балансовые расчеты изменения состава нефтяного загрязнителя позволяют оценить не только снижение его концентрации в целом, но и отдельных входящих в его состав фракций [Восстановление нефтезагрязнённых..., 1988; Коротяев, Бабичев, 2008; Патент..., 2013а; Патент..., 2013б; Поздеев, 2001].

В 2011–2012 гг. работы по данной тематике были продолжены в рамках Государственного контракта № 16.515.11.5042 от 12.05.2011 с Министерством образования и науки Российской Федерации.

В соответствии с поставленной целью и задачами исследований из природных образцов почвы, донных осадков и воды из зон антропогенного нефтяного загрязнения было выделено 9 штаммов УОМ, относящихся к родам *Pseudomonas*, *Mycobacterium* и *Rhodococcus*, использующих нефть и нефтепродукты в качестве единственного источника углерода. По разработанной программе в условиях лаборатории было проведено тестирование выделенных штаммов на активность окисления дизельного топлива и нефтей. По результатам комплексного детального химико-битуминологического анализа доопытных и послеопытных образцов нефтяных загрязнителей и балансовых расчетов процесса их деструкции было выделено 4 штамма УОМ, послуживших основой для создания опытных образцов биопрепаратов. По специально разработанному ранее регламенту было изготовлено

4 опытных образца биопрепарата, продолжающих серию биопрепаратов НАФТОКС [Биопрепараты серии..., 1995].

Опытные образцы биопрепарата НАФТОКС 12-Р, НАФТОКС 48-У (на основе штамма *Pseudomonas aeruginosa*) и штамма *Pseudomonas citronelollis* соответственно) [Патент..., 2013а; Патент..., 2013б;] прошли по специально разработанной программе тестирование на эффективность деструкции нефтяного загрязнителя. Объектом очистки была выбрана окультуренная садово-огородная почва. Степень загрязнения почвы составляла ~ 2,0% вес. (20 000 мг/кг). Проведенная сравнительная характеристика по эффективности деструкции нефтей и дизельного топлива показала различную способность рассматриваемых штаммов как к окислению нефтяного загрязнения в целом, так и отдельных входящих в его состав фракций.

Согласно опубликованным результатам научно исследовательских работ род *Pseudomonas* относится к семейству *Pseudomonadaceae* (класс *Gammaproteobacteria*, тип *Proteobacteria*) и насчитывает более 20 видов. Одни из них являются естественными обитателями почвы и воды и поэтому играют огромную роль в круговороте веществ в природе [Коротяев, Бабичев, 2008]. Бактерии рода *Pseudomonas* составляют группу аэробных неферментирующих грамотрицательных палочек, неприхотливых и нетребовательных к составу культуральных сред, что отличает их от других грамотрицательных бактерий. Псевдомонады подвижны (исключая *P. mallei*), имеют жгутики, расположенные полярно; хемоорганотрофы, оксидаза-положительны [Поздеев, 2001]. Физиологические свойства этих бактерий более точно определяет термин «неферментирующие бактерии», так как они разлагают углеводы, не используя их в качестве источника энергии, а окисляют их, что легко установить при помощи теста Хью-Лёйфсона [Коротяев, Бабичев, 2008]. Процессы биогенного окисления углеводов настолько сложны, что в настоящее время ещё не имеется достаточно четкого и определенного представления об их механизме. Вопрос этот сложен уже потому, что на направление процесса биогенного окисления оказывают влияние многие факторы: кислотность среды (Ph), окислительно-восстановительные условия (Ph₂), температура, освещение, осмотическое давление и т.д. Помимо перечисленных условий, имеют значение и физиологические особенности самих микроорганизмов, проявляющиеся при окислении индивидуальных углеводов и их смесей.

Микроорганизмы обладают свойством избирательного отношения к различным углеводородам, причем эта способность определяется не только различием в структуре вещества, но даже и количеством углеводородных атомов, входящих в структуру. Так, например, выделенные и описанные И. Таучем и В. Петровым *Bacterium aliphaticum* и *Bacterium aliphaticum liquefaciens* окисляли *n*-гексан, *n*-октан, декан, гексадекан, триаконтан

и тетра триоктан, а выделенная ими же *Bacterium paraffinicum* окисляла только высшие члены этого ряда, начиная с гексадекана [Коротяев, Бабичев, 2008].

Микробиологические превращения углеводородов представляют собой особую область из-за некоторых особенностей этих процессов. Их специфика обусловлена своеобразием углеводородов как химических соединений с предельной восстановленностью и связанными с этим гидрофобными свойствами. Оказалось, что гидрофобность углеводородной молекулы имеет большое значение для химизма микробиологического окисления этих соединений, их транспорта в микробную клетку, динамики роста культур, их физиологии, многих аспектов технологии процессов, связанных с применением субстратов углеводородной природы [Скрябин, Головлёва, 1976].

Все реакции микробиологического превращения углеводородов являются окислительными процессами. Предельная восстановленность этих веществ делает необходимым для их окисления включение кислорода. Гидрофобный характер молекулы является причиной того, что процессы окисления осуществляются оксигеназами, в отличие от окисления более гидрофильных веществ, происходящего под действием дегидрогеназ. Гидрофобность углеводородных субстратов и их плохая растворимость в воде определяют способы транспорта веществ в клетку, рассмотренные выше [Розанова, Кузнецов, 1974].

Характерной особенностью процесса ассимиляции углеводородов в качестве источника углерода является часто встречающееся накопление промежуточных продуктов в культуральной среде микроорганизмов, растущих за счет таких субстратов [Восстановление нефтезагрязнённых..., 1988; Скрябин, Головлёва, 1976].

Бактерии рода *Pseudomonas* способны окислять углеводороды разных классов, входящих в состав нефти и нефтепродуктов. Окисление алкенов псевдомонадами протекает двумя путями: по метильной концевой группе и по двойной связи молекулы. В отношении ароматических углеводородов эти бактерии обладают большим катаболическим потенциалом. Они способны в зависимости от сложности структуры полностью утилизировать или частично трансформировать такие соединения как нафталин, фенантрен, антрацен, флуорен и др. Структурное сходство нафталина и фенантрена и данные относительно ферментов, участвующих в катаболизме этих соединений, позволили предположить возможность модификаций генетических систем биodeградации нафталина с приобретением ими способности детерминировать деградацию фенантрена.

Алкилзамещенные ароматические углеводороды с длинной алифатической цепью также окисляются до кислот микроорганизмами рода *Pseudomonas*. При этом алифатическая цепочка служит источником углерода, фрагментируясь в процессе β -окисления, и редуцируется до одного, двух или трех углеродных атомов. Соответственно в культуральной

среде накапливаются бензойная или фенилуксусная кислота, в некоторых случаях фенилакриловая. Ароматические кислоты могут образовываться таким образом в значительных количествах [Восстановление нефтезагрязнённых..., 1988; Преобразование нефтей..., 1970; Розанова, Кузнецов, 1974; Скрыбин, Головлёва, 1976].

Также проведены многочисленные исследования по утилизации нефти бактериями рода *Pseudomonas*. Для постановки опыта была взята метано-нафтеновая нефть. При постановке эксперимента с чистой культурой *Ps. Fluorescens*, при визуальном наблюдении было выявлено очень активное размножение микроорганизмов данного рода. Через трое суток после посева под нефтью образовалась рыхлая бактериальная пленка [Преобразование нефтей..., 1970].

Для выяснения характера изменения нефти под влиянием *Ps. fluorescens*, нефть и культуральная среда подвергались химическому исследованию. В культуральной среде опытов найдены водорастворимые органические вещества, о чем можно было судить после выпаривания среды по содержанию углерода в полученном осадке. Содержание углерода в осадке соответствовало 28,3% [Преобразование нефтей..., 1970].

Согласно изложенному выше, можно сделать вывод, что бактерии рода *Pseudomonas* являются одним из приоритетных представителей всего многообразия микроорганизмов, окисляющих углеводороды нефти и нефтепродуктов.

При создании биопрепаратов на основе УОМ рода *Pseudomonas* большое значение имеет их высокая технологичность – способность активно размножаться и сохранять высокий титр (кл/г) в присутствии нефтяных углеводородов и соответствующих условий жизнеобеспечения. Тестирование в условиях лаборатории созданных биопрепаратов НАФТОКС 12-Р и НАФТОКС 48-У проводилось по специально разработанной схеме, позволяющей во времени проследить за особенностями воздействия конкретного биопрепарата на концентрацию и состав нефтяного загрязнителя почвы (рис. 1). В табл. 1 приведен состав нефтяного загрязнения доопытных образцов и почвы.

Химико-битуминологические анализы доопытных, опытных и послеопытных образцов нефтезагрязненной почвы выполнены в Комплексной лаборатории химических и физических методов исследования УВ сырья и нефтегазоматеринских пород ФГУП «ВНИГРИ» под руководством к. г.-м. н. А.И. Шапиро. Согласно таблице, почва, загрязненная дизельным топливом, по сравнению с нефтяным загрязнением, в большей степени обогащена маслами, метано-нафтеновыми и ароматическими углеводородами (кроме Ar II). Фракции смол содержатся в меньшей концентрации. Загрязнение почвы нефтью из месторождения Русское, в отличие от нефти месторождения Западно-Тэбукское, в своем составе содержит несколько большую концентрацию ароматических углеводородов (43,65% против 33,75%).



Рис. 1. Научно-экспериментальный комплекс по исследованию эффективности биопрепарата по очистке нефтезагрязненных почв в лабораторных условиях

Таблица 1

Качественный состав хлороформных экстрактов образцов нефтезагрязненной почвы для лабораторного исследования эффективности биоокисления препаратами серии НАФТОКС

№ п/п	Нефтяной загрязнитель образца почвы	Групповой состав, %				Углеводородный состав, %			
		масла	бенз. смолы	сп./б. смолы	асф.	Me-Nf	Ar I	Ar II	Ar III
1	дизельное топливо	88,57	1,50	6,93	3,00	73,44	19,49	3,00	4,07
2	нефть, месторождение Западно-Тэбукское	70,40	10,80	14,00	4,80	64,25	13,37	22,38	-
3	нефть, месторождение Русское	73,31	11,55	11,95	3,19	56,35	17,96	25,69	-

Доопытные образцы нефтезагрязненной почвы были обработаны биопрепаратами. На начало опытов титр УОМ в очищаемой почве составил 107–108 кл/г. Мониторинг титра УОМ (табл. 2) показал значительное его колебание в процессе проведения очистных работ. При снижении титра УОМ до 105–106 кл/г в очищаемую почву вносился посевной материал с титром 108–109 кл/г. Одновременно с определением содержания УОМ в опытных образцах контролировалось значение рН. На протяжении первых 10 недель с начала опытов значение рН очищаемой почвы находилось в пределах 6,5–7,0. В интервале 12–18 недель продолжения опытов значение рН возросло до 7,3–8,4, что связано, как указывалось выше, с особенностями окисления микроорганизмами гидрофобных углеводородов нефтяного загрязнителя.

Эффективность биопрепаратов по очистке нефтезагрязненных почв, согласно ГОСТу 17.1.4.01-80 (Охрана природы. Гидросфера) и РД 52.18.575-96, оценивается по остаточному содержанию нефтепродуктов. Под «нефтепродуктами» в данном случае понимается сумма малополярных углеводородов, составляющая, как отмечается в ГОСТе, главную и наиболее характерную часть нефти и продуктов ее переработки. Однако не следует забывать, что «нефтепродукты» являются лишь одной из фракций нефтяного загрязнителя и в зависимости от его состава содержание этой фракции может колебаться в значительных пределах. Несомненно, при загрязнении почвы дизельным топливом содержание в ней нефтепродуктов выше, чем при загрязнении мазутом. В связи с этим, **результаты анализа по содержанию в загрязненной почве нефтепродуктов свидетельствуют лишь об относительном снижении содержания фракции нефтепродуктов в составе нефтяного загрязнителя.**

Более объективную картинку эффективности биопрепаратов по очистке нефтяного загрязнения можно получить при анализе процесса снижения количества хлороформного экстракта и его фракций в составе загрязненной почвы.

Таблица 2

**Титр углеводородокисляющих микроорганизмов (кл/г) в образцах нефтезагрязненной почвы,
очищаемой биопрепаратами серии НАФТОКС в лабораторных условиях**

№ п/п	Нефтяное загрязнение	НАФТОКС	начало опытов	Продолжительность опыта (недели)												
				2	4	8	12	14	16	18	21	23	26	28	30	32
1	дизельное топливо	12-Р	10^8	10^9	10^8	10^{6*}	10^{6*}	10^6	-	10^6	-	10^{6*}	-	10^8	-	10^8
2		48-У	10^7	10^8	10^8	10^{6*}	10^{5*}	10^6	-	10^6	-	10^7	-	10^8	-	10^7
3	нефть, месторождение Западно-Тэбукское	12-Р	10^7	10^8	10^6	10^7	10^7	-	10^6	-	10^{6*}	-	10^8	-	10^7	-
4	нефть, месторождение Русское	12-Р	10^8	10^9	10^8	10^8	10^8	10^6	-	10^7	-	10^{6*}	-	10^8	-	10^6
5		48-У	10^7	10^7	10^8	10^7	10^{6*}	10^5	-	10^6	-	10^8	-	10^7	-	10^7

* - Внесение посевного материала с титром 10^8-10^9 кл/мл.

При обобщении и анализе результатов мониторинга содержания нефтепродуктов в очищаемой почве была рассчитана величина остаточного их содержания (вес. % относительно исходного) и выявлена динамика этого процесса. Согласно полученным результатам за время проведения опытов содержание фракции нефтепродуктов при загрязнении почвы дизельным топливом снизилось до 9,7% (НАФТОКС 12-Р) и до 10,9% (НАФТОКС 48-У). Содержание нефтепродуктов в почве, загрязненной нефтью из месторождения Русское снизилось до 25,9% (НАФТОКС 48-У), нефтью из месторождения Западно-Тэбукское до 22,6% (НАФТОКС 12-Р). Очистка почвы, загрязненной дизельным топливом, происходит полнее, чем почвы, загрязненной нефтью. Рассмотрение динамики изменения содержания фракции нефтепродуктов в очищаемой почве дает более четкую картину происходящих процессов. На рис. 2 приведена динамика очистки нефтезагрязненной почвы биопрепаратом НАФТОКС 12-Р.

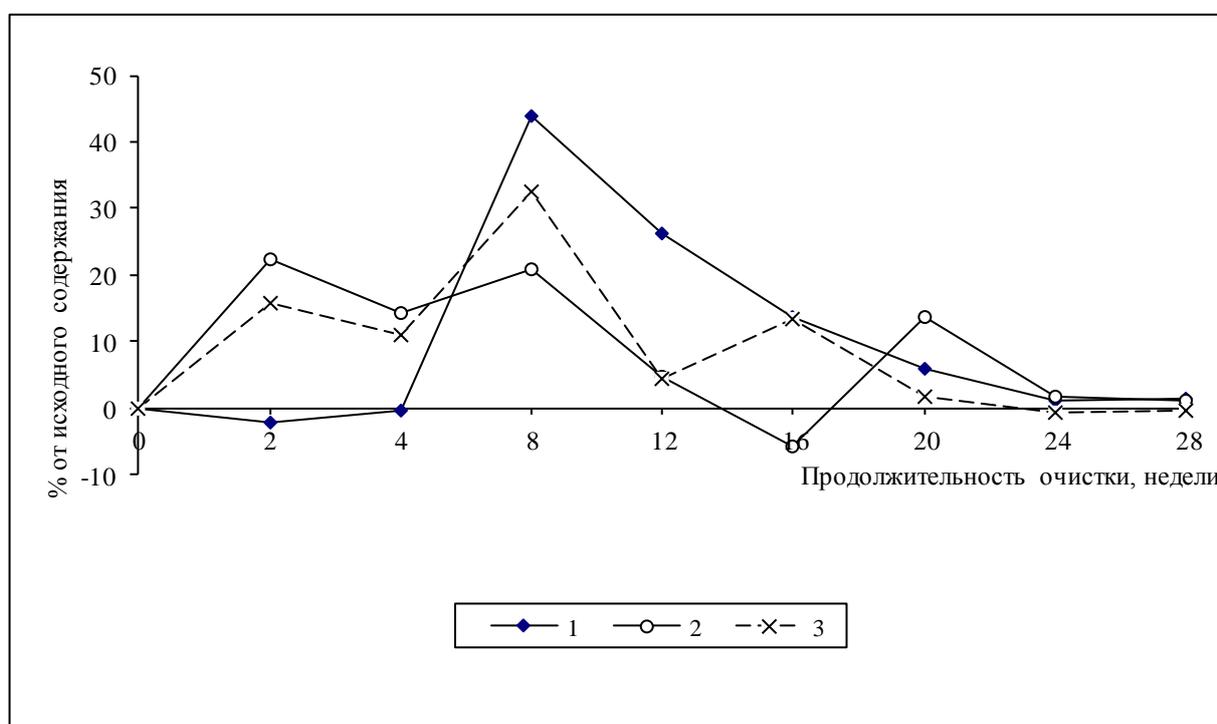


Рис. 2. Динамика снижения в нефтезагрязненной почве фракции «нефтепродукты» (% от исходного содержания) при очистке биопрепаратом НАФТОКС 12-Р

1 – дизельное топливо; 2 – нефть, месторождение Русское; 3 – нефть, месторождение Западно-Тэбукское.

Процесс очистки нефтезагрязненной почвы биопрепаратом НАФТОКС 12-Р происходил неравномерно. На разных этапах очистки снижение фракции нефтепродуктов составляет от 1 до 43,9% от исходного содержания в зависимости от состава нефтяного загрязнителя. Следует также отметить, что в процессе очистки, на определенных этапах, отмечается возрастание содержания фракции нефтепродуктов, по сравнению с предыдущими. Логично предположить, что на этих этапах происходит новообразование

промежуточных продуктов окисления, которые при экстракции почвы СС14 попадают во фракцию нефтепродуктов и оказывают влияние на скорость и эффективность процесса очистки в целом.

Мониторинг содержания хлороформенного битумоида (ХБА) в очищаемой почве проводился через 3 и 7 месяцев от начала опытов. В табл. 3 приведен качественный состав образцов почвы после 7 месяцев её очистки созданными биопрепаратами. Результаты анализов содержания и состава ХБА в доопытных и послеопытных образцах почвы, загрязненной дизельным топливом и нефтями, послужили основой для балансовых расчетов процессов биоочистки почвы и сравнительной характеристики тестируемых биопрепаратов. Итоговая табл. 4 наглядно это демонстрирует.

Как следует из таблицы, тестируемые биопрепараты практически в равной степени деструктурируют дизельное топливо в целом и в его составе – фракции масел, метано-нафтеновых, ароматических углеводородов (за небольшим исключением Ar II) и спиртобензольных смол (разница составляет 2,3%). Биопрепарат НАФТОКС 12-Р более избирательно подходит к окислению бензольных смол и асфальтенов (41,0 и 44,3% против 27,7 и 23,8% соответственно).

Таблица 3

Качественный состав хлороформенного битумоида очищенной биопрепаратом НАФТОКС 12-Р нефтезагрязненной почвы (продолжительность очистки – 7 месяцев)

№ п/п	Нефтяной загрязнитель	НАФТОКС	Групповой состав, %				Углеводородный состав, %			
			масла	бенз. смолы	сп./б. смолы	асф.	Me-Nf	Ar I	Ar II	Ar III
1	дизельное топливо	12-Р	52,58	6,25	29,41	11,76	69,93	24,48	5,59	-
2		48-У	47,06	7,45	29,80	15,69	73,56	22,31	4,13	-
3	нефть, месторождение Западно-Тэбукское	12-Р	35,67	19,91	35,67	8,75	47,85	27,00	25,15	-
4	нефть, месторождение Русское	12-Р	37,40	21,15	35,68	5,77	44,57	21,71	22,29	11,43
5		48-У	35,78	21,12	37,50	5,60	50,00	10,24	33,13	6,63

В отношении нефтей биопрепарат НАФТОКС 12-Р более эффективно окисляет нефть месторождения Западно-Тэбукское в целом и входящие в её состав фракции метано-нафтеновых углеводородов и Ar I, по сравнению с нефтью и аналогичными в её составе фракциями месторождения Русское.

Биопрепарат НАФТОКС 48-У, по сравнению с НАФТОКСом 12-Р, в большей степени окислил нефть месторождения Русское в целом и фракции масел и Ar I, входящих в её состав.

Следует отметить, что деструкция нефтей происходит значительно медленнее, чем дизельного топлива и сопровождается значительным новообразованием промежуточных продуктов окисления. Новообразованные промежуточные продукты при анализе ХБА попадают во фракции смол, асфальтенов и повышают их содержание в послеопытных образцах, по сравнению с доопытными, на 13,8–160,2% (табл. 4).

Изложенное выше позволяет заключить следующее:

- созданные на основе бактерий рода *Pseudomonas* новые образцы биопрепаратов серии НАФТОКС показали высокую эффективность деструкции нефтяного загрязнения почвы;
- в лабораторных условиях за 7 месяцев садово-огородная почва при загрязнении дизельным топливом (~ 2% вес.) была очищена на 85,5–85,8%;
- очистка почвы от нефти проходила медленнее (степень очистки составила 12,8–37,6%) из-за более сложного ее состава и незавершенности процесса. Свидетельством последнего является наличие в послеопытных образцах почвы значительного количества новообразованных промежуточных продуктов окисления;
- введение в практику контроля за ходом очистных работ детального химико-битуминологического анализа и балансовых расчетов позволило объективно оценить процесс утилизации нефтяного загрязнителя в целом и отдельных входящих в его состав фракций, а также выявить предпочтение конкретных штаммов УОМ к окислению определенных фракций нефтяного загрязнителя, что имеет принципиальное значение при создании образцов биопрепарата целевого назначения.

Результаты выполненных исследований с учетом большого научно-исследовательского и практического опыта предыдущих работ по данной проблеме явились основанием для разработки концепции и инновационной технологии очистки нефтезагрязненных почв с использованием биопрепаратов серии НАФТОКС.

Технология очистки нефтезагрязненных почв включает проведение мероприятий технического порядка и научно-экспериментальных исследований с целью:

- оценки нефтеэкологической ситуации на загрязненной территории;
- решения вопроса о целесообразности применения технологии биологической очистки;
- определения возможности использования для очистки УОМ-аборигенов или готовых образцов биопрепаратов серии НАФТОКС;
- выбора оптимального режима и сроков проведения очистных работ;
- выполнения технических мероприятий по очистке территории;

Таблица 4

**Результаты лабораторного исследования эффективности биопрепаратов НАФТОКС 12-Р и НАФТОКС 48-У
по утилизации нефтяного загрязнения почвы (продолжительность очистки – 7 месяцев)**

№ п/п	Биопрепарат НАФТОКС	Нефтяной загрязнитель	Снижение содержания ХБА, % от исходн.	Изменение содержания фракций ХБА, % от исходного							
				Групповой состав				Углеводородный состав масел			
				масла	бенз. смолы	сп. бенз. смолы	асфальтены	Me-Nf	Ar I	Ar II	Ar III
1	12-Р	дизельное топливо	85,8*	91,6	41,0	39,8	44,3	92,0	89,4	84,3	100,0
2		нефть, месторождение Западно- Тэбукское	37,6	68,4	+ 15,1**	+ 59,0	+ 13,8	76,5	36,2	64,4	-
3		нефть, месторождение Русское	12,8	55,5	+ 59,6	+ 160,2	+ 57,7	64,8	46,2	61,4	+
4	48-У	дизельное топливо	85,5	92,3	27,7	37,5	23,8	92,3	91,2	89,3	100,0
5		нефть, месторождение Русское	20,3	61,1	+ 45,8	+ 150,1	+ 39,9	65,5	77,8	49,8	+

* 85,8 – снижение содержания по сравнению с исходным

** + 15,1 – возрастание содержания по сравнению с исходным

- проведения мониторинга процесса очистки;
- оценки эффективности очистки почвы от нефтяного загрязнения;
- решения вопроса о кратности проведения цикла очистных работ;
- заключения о результатах очистки, активирования эффективности очистки.

В заключение следует отметить, что предложенная в данной работе технология и биопрепараты серии НАФТОКС, выпускаемые целевым назначением по результатам предварительного исследования нефтезагрязненной территории, базируются на уникальной коллекции Музея штаммов УОМ, выделенных специалистами ФГУП «ВНИГРИ» за долгие годы из зон многолетних нефтезагрязнений в различных природных условиях.

Именно наличие коллекции УОМ, способных эффективно окислять различные фракции углеводородов нефтяных загрязнителей, позволило создать технологию биологической очистки с использованием биопрепаратов целевого назначения серии НАФТОКС.

Литература

Акопова Г.С. Очистка техногенных сред, загрязненных углеводородами, с использованием биопрепаратов // Газовая промышленность. - 2008. - № 6. - С. 69-71.

Биопрепараты серии НАФТОКС для очистки почвенных и водных экосистем от загрязнений / Е.А. Рогозина, А.В. Хотянович, Р.А. Архангельская и др. // Доклады Первой Всероссийской конференции «Поиски нефти, нефтяная индустрия и охрана окружающей среды». - СПб., 1995. - С. 137-144.

Водянова М.А., Хабарова Е.И., Донерьян Л.Г. Анализ существующих микробиологических препаратов, используемых для биodeградации нефти в почве // Горный информационный аналитический бюллетень (НТР). - 2010. - Семинар № 10. - С. 253-258.

Восстановление нефтезагрязнённых почвенных экосистем / Под ред. М.А. Глазовской. - М.: Наука, 1988. - 253 с.

Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для мед. ВУЗов. - СПб.: СпецЛит, 2008. 4-е изд. испр. и доп. - 767 с.

Патент 2489482 Российская Федерация. ШТАММ *Pseudomonas aeruginosa* RCAM01139 для разложения нефти и дизельного топлива / Рогозина Е.А., Тимергазина И.Ф., Переходова Л.С.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский нефтяной научно-исследовательский геологоразведочный институт» - заявка № 2012135432, приор. 14.08.2012, зарег. 10.08.2013б Бюлл. № 22. - 5 с.

Патент 2489484 Российская Федерация. ШТАММ *Pseudomonas citronellolis*, используемый для разложения нефти дизельного топлива / Рогозина Е.А., Тимергазина И.Ф., Переходова Л.С.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное унитарное

предприятие «Всероссийский нефтяной научно-исследовательский геологоразведочный институт» - заявка № 2012135434, приор. 14.08.2012, зарег. 10.08.2013а Бюлл. № 26. – 5 с.

Поздеев О.К. Медицинская микробиология: учебник для ВУЗов. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. - 765 с.

Преобразование нефтей микроорганизмами / Под ред. Б.Г. Хотимского и А.И. Акопиан // Труды ВНИГРИ. - Л., 1970. - 281 с.

Рогозина Е.А. Геохимические изменения в составе нефтей при биодegradации // Разведка и охрана недр. Вып. ВНИГРИ, СПб., 2010. - № 4. - С. 63-68.

Рогозина Е.А., Андреева О.А., Жаркова С.И., Мартынова Д.А., Орлова Н.А. Сравнительная характеристика отечественных биопрепаратов, предлагаемых для очистки почв и грунтов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами // Нефтегазовая геология. Теория и практика. - 2010. - Т.5. - №3. - http://www.ngtp.ru/rub/7/37_2010.pdf

Розанова Е.П., Кузнецов С.И. Микрофлора нефтяных месторождений. - М.: Наука, 1974. - 197 с.

Скрябин Г.К., Головлёва Л.А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. - М.: Наука, 1976. - 332 с.

Rogozina E.A., Timergazina I.F., Morgunov P.A.

All-Russia Petroleum Research Exploration Institute (VNIGRI), Saint Petersburg, Russia, ins@vnigri.ru

CLEANING OIL-CONTAMINATED SOIL BY PSEUDOMONAS BACTERIA – BASIS OF BIOLOGICAL PRODUCTS NAFTOKS 12-R AND NAFTOKS 48-U

*The comparative characteristics of two newly created biologics NAFTOKS 12-R (*Pseudomonas aeruginosa*) and NAFTOKS 48-U (*Pseudomonas citronelollis*) on the effectiveness of cleaning soil from diesel fuel and oil in the laboratory are presented. For 7 months of experiments diesel fuel oxidized by 85.5-85.8% of initial content in the soil (~2% wt.). Oil fractions in its content oxidized by 91.6 and 92.3%, benzene resins - 41.0 and 27.7%, alcohol-benzene resins - 39.8 and 37.5%, asphaltenes - 44.3 and 23.8% of the initial content. Methane-naphthenic hydrocarbons decreased by 92.0 and 92.3%, aromatic hydrocarbons - by 84.3-100% and 89.3-100% of the initial content, respectively, by adding NAFTOKS 12-R and NAFTOKS 48-U biologics in oil-contaminated soil. Biooxidation of oil contamination accompanied by formation of intermediate oxidation products. The fundamental principles of innovative technology of cleaning oil-contaminated soils using NAFTOKS biologics are discussed.*

Keywords: oil-contaminated soil, bioremediation, NAFTOKS biologics, cleaning efficiency of soil, soil treatment technology.

References

Akopova G.S. *Ochistka tekhnogennykh sred, zagryaznennykh uglevodorodami, s ispol'zovaniem biopreparatov* [Cleaning manmade environments contaminated with hydrocarbons, with use of biological products]. *Gazovaya promyshlennost'*, 2008, no. 6, p. 69-71.

Biopreparaty serii NAFTOKS dlya ochistki pochvennykh i vodnykh ekosistem ot zagryazneniy [NAFTOKS biologics series for cleaning soil and aquatic ecosystems from contaminations]. E.A. Rogozina, A.V. Khotyanovich, R.A. Arkhangel'skaya et al. *Doklady Pervoy Vserossiyskoy konferentsii «Poiski nefti, neftyanaya industriya i okhrana okruzhayushchey sredy»*. Saint Petersburg, 1995, p. 137-144.

Korotyaev A.I., Babichev S.A. *Meditsinskaya mikrobiologiya, immunologiya i virusologiya* [Medical microbiology, immunology and virology]. Saint Petersburg: SpetsLit, 2008, 4th edition, 767 p.

Pozdeev O.K. *Meditsinskaya mikrobiologiya* [Medical microbiology]. Moscow: GEOTAR-MED, 2001, 765 p.

Preobrazovanie neftey mikroorganizmami [Oil converting using microorganisms]. Editors B.G. Khotimskiy and A.I. Akopian. *Trudy VNIGRI*. Leningrad, 1970, 281 p.

Rogozina E.A. *Geokhimicheskie izmeneniya v sostave neftey pri biodegradatsii* [Geochemical changes in the composition of oils during biodegradation]. *Razvedka i okhrana nedr*, 2010, no. 4, p. 63-68.

Rogozina E.A., Andreeva O.A., Zharkova S.I., Martynova D.A., Orlova N.A. *Sravnitel'naya kharakteristika otechestvennykh biopreparatov, predlagaemykh dlya ochistki pochv i gruntov ot zagryazneniya neft'yu i nefteproduktami* [Comparative characteristics of domestic biologics proposed for cleaning of soils from oil and oil products contamination]. *Neftgazovaya geologiya. Teoriya i praktika*, 2010, vol. 5, no. 3, available at: http://www.ngtp.ru/rub/7/37_2010.pdf

Roanova E.P., Kuznetsov S.I. *Mikroflora neftyanykh mestorozhdeniy* [Microflora of oil fields]. Moscow: Nauka, 1974, 197 p.

Skryabin G.K., Golovleva L.A. *Ispol'zovanie mikroorganizmov v organicheskom sinteze* [Use of microorganisms in organic synthesis]. Moscow: Nauka, 1976, 332 p.

Vodyanova M.A., Khabarova E.I., Doner'yan L.G. *Analiz sushchestvuyushchikh mikrobiologicheskikh preparatov, ispol'zuemykh dlya biodegradatsii nefti v pochve* [Analysis of

existing microbiological products used for oil biodegradation in soil]. Gornyy informatsionnyy analiticheskiy byulleten' (NTR), 2010, seminar 1, p. 253-258.

Vosstanovlenie neftezagryznennykh pochvennykh ekosistem [Remediation of oil-contaminated soil ecosystems]. Editor M.A. Glazovska. Moscow: Nauka, 1988, 253 p.

© Рогозина Е.А., Тимергазина И.Ф., Моргунов П.А., 2014