

## ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ УГЛЕВОДОРОДНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ КАК СПОСОБ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ОЧИСТКИ ВОДЫ

**И.И. Иваненко, А.М. Новикова, Е.Я. Лапатина**

E-mail: i5657@mail.ru

*ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный архитектурно-строительный университет», Санкт-Петербург, Россия*

**АННОТАЦИЯ:** Повышенное загрязнение углеводородами природной среды и водных объектов в последние десятилетия побуждают искать пути сокращения антропогенного загрязнения. Ряд современных биотехнологий охраны окружающей среды предусматривают процесс микробной интродукции – внесение в естественную среду (почва, водоемы) микроорганизмов с полезной функцией.

В статье представлены результаты лабораторных исследований по анализу скорости усвоения углеводородов различными микроорганизмами, изучению их гидрофильно-гидрофобно-адгезивных свойств, а также результаты поиска корреляции между степенью гидрофобности поверхности клетки и скоростью потребления загрязняющего углеводорода. опыты по микробному отделению нефтепродуктов от песка и тефлоновой поверхности позволили установить возможность такого рода деструкции и определить ориентировочное время обработки в зависимости от температуры. По показателю степени гидрофобности участвующие в процессе разложения штаммы бактерий размещены в ряд активности, позволяющий более успешно устанавливать соотношения микроорганизмов-деструкторов в пространственных сообществах для биологической очистки сточных вод.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нефтепродукты, микроорганизмы-деструкторы, азотфиксация, скорость деструкции, ряд активности деструкторов, антропогенное загрязнение.

**Финансирование:** Исследования выполнены в СПбГАСУ в рамках гранта №АААА-А19-119092390023-1 «Современные подходы (методы) в системе биологической очистки производственных сточных вод при помощи селекции микроорганизмов-деструкторов. Этап 1. Исследование удаления углеродсодержащих загрязнений в технологии биологической очистки промышленных сточных вод и грунтов».

**Благодарности:** Авторы выражают большую благодарность всему коллективу издания за помощь в подготовке материалов для публикации.

© Иваненко И.И., Новикова А.М., Лапатина Е.Я.

Нефть и нефтепродукты, содержание которых во многих водоемах мира сегодня превышает нормы ПДК, пагубно влияют на растительные и животные организмы, населяющие водные объекты и экосистему водоема в целом. Особенно токсичны ароматические углеводороды, при этом ингибирующее действие нефти на водную флору и фауну сохраняется годами. Населяющие загрязненные акватории гидробионты аккумулируют нефтепродукты в тканях, что создает угрозу передачи углеводов по «трофической цепи» в организм человека.

Ряд современных биотехнологий охраны окружающей среды предусматривают процесс микробной интродукции – внесение в естественную среду микроорганизмов с той или иной полезной функцией. Этот подход широко применяется для очистки природных объектов от нефтяных загрязнений, пестицидов и других загрязнителей.

Известно более ста родов бактерий, дрожжей и грибов, способных усваивать углеводороды [1, 2]. К наиболее активным деструкторам углеводородов в пресных водоемах относятся такие виды, как *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. Среди микроорганизмов, которые в условиях азотфиксации окисляют углеводороды нефти, есть представители разных физиологических групп, в т. ч. и азотфиксаторы, относящиеся к родам *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Azotobacter*, *Xanthomonas*, *Candida* [3–6].

Общим свойством всех микроорганизмов является высокая олигокарбофильность. Они могут развиваться при очень низких концентрациях углеводородов [2, 7, 8]. В то же время некоторые бактерии способны переносить высокие концентрации углеводородов – это артробактерии, микобактерии и родственные им формы. Эти бактерии развиваются в каплях нефти. Благодаря наличию липофильной клеточной стенки они способны пассивно поглощать углеводороды [9]. В целом для микроорганизмов наиболее доступными являются алифатические углеводороды. Большинство представителей микробного мира хорошо усваивают n-алканы с длиной цепи  $C_{12}$ – $C_{23}$ . Парафины, с большим числом углеродных атомов, хуже поддаются микробному трансформированию. В работе [10] показана способность *Candida maltose* утилизировать твердые алканы (в частности,  $C_{20}$ – $C_{25}$ ). В более ранних работах этих авторов, исследована деструкция дрожжами твердых парафинов, растворенных в инертной органической фазе или диспергированных ультразвуком [11].

Углеводороды бензинового ряда  $C_5$ – $C_{10}$  утилизируются небольшой группой микроорганизмов, среди которых, в основном, бактерии родов

*Pseudomonas* [12, 13], *Brevibacterium* и *Nocardia* [14, 15]. Некоторые авторы объясняют это тем, что жидкие углеводороды растворяют липиды бактериальных клеток [16], другие связывают это явление с токсичностью отдельных углеводородов и неспособностью микроорганизмов использовать продукты их метаболизма [17].

Из литературных источников известно, что бактерии легко трансформируют и обезвреживают алифатическую нефть [18]. При этом установлены отличия в окислении насыщенных и ненасыщенных углеводородов, линейных и разветвленных с двойными или тройными связями. Среди представителей рода *Mycobacterium* вид *Mycobacterium rhodochrous* активно окисляет алканы с длинной цепи  $C_{13}-C_{16}$ , *Mycobacterium fortuitum* – метан и  $C_8-C_{16}$  алканы, *Mycobacterium smegmatis* –  $C_3-C_5$ -углеводороды. В окружающей среде выделено много штаммов *Pseudomonas*, которые способны активно ассимилировать низкомолекулярные n-алканы, но они не ассимилируют твердые парафины. Мезофильные и термофильные бациллы окисляют  $C_{10}-C_{14}$  алканы, а для микрококков характерна способность минерализовать углеводороды  $C_{13}-C_{22}$ . Многие виды дрожжей окисляют n-парафины с длиной цепи  $C_{12}-C_{22}$ .

Механизм усвоения этих углеводородов микроорганизмами исследован во многих работах. Однако до настоящего времени не полностью изучен механизм отделения нефти микроорганизмами в условиях нефтегазового пласта, нефтешламонакопителей или пропитанной нефтью почвы. Изучение этих принципов позволило бы создать новые, экологически чистые и эффективные методы очистки и извлечения нефти из воды, технологии разрушения нефтешламов в накопителях осадков и очистки почвы при аварийных выбросах нефтепродуктов.

Цель проведенного исследования – изучение скорости усвоения различных нефтепродуктов отдельными штаммами микроорганизмов в условиях нефтегазового пласта, нефтешламонакопителей или пропитанной нефтью почвы, связи гидрофобных и адгезивных свойств выделенных штаммов-деструкторов нефтепродуктов с их способностью удалять нефть с поверхности твердого тела.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По результатам литературного анализа отобраны штаммы микроорганизмов, которые используют нефть и нефтепродукты как единственный источник углерода и энергии при их концентрации в воде до 20–40 мг/дм<sup>3</sup>. Для опытов использовали штаммы из различных коллекций микроорганизмов ЗАО «Биоойл» и ФГБУН «Институт биофизики и физиологии микроорганизмов им Г. К. Скрыбина Российской академии наук». По совокупности морфолого-культуральных и физиолого-биохимических свойств отбран-

ные культуры отнесены к родам: *Pseudomonas* (5 штаммов), *Acinetobacter* (2 штамма), *Arthrobacter* (2 штамма), *Micrococcus* (2 штамма), *Flavobacterium* (1 штамм), *Rhodococcus* (1 штамм).

Определение степени гидрофобности бактериальных клеток проводили методом солевой агрегации SAT (Salt Aggregation Test) [19]. Для этого готовили растворы  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в различных концентрациях. На предметном стекле смешивали в равных количествах раствор сульфата аммония и суспензию штаммов и через 1 мин регистрировали формирующиеся агрегаты 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. Исходную клеточную суспензию (без добавления  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) применяли в качестве контроля.

Адгезивную активность штаммов в отношении твердых поверхностей устанавливали по модифицированному методу В. Huber [20]. Для этого суспензию бактериальных клеток в фосфатном буфере (200 мкл) инкубировали в микропланшетном шейкере-инкубаторе Titramax 1000 (Heidolph-Instruments, Германия) при 150 об/мин и 28 °С в течение 48 ч. Неадгезированные штаммы отмывали фосфатным буфером, прикрепленные клетки окрашивали 1 % водным раствором кристаллического фиолетового 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. Количество прикрепленных клеток определяли по калибровочным графикам. Степень адгезии вычисляли как процентное соотношение числа прикрепленных клеток к исходному числу клеток в суспензии.

В качестве полноценной среды использовали среду М9. Культивирование штаммов проводили в колбах Эрленмейера со 100 мл минеральной среды Эванса с добавлением нефти или дизельного топлива до конечной концентрации 2 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % или 40 % весовых (по объему). Инкубирование колб проводили суспензией микроорганизмов (посевная доза 1–5×10<sup>7</sup> кл/мл). После засева колбы помещали на круговую качалку (120 об/мин) и выращивали микроорганизмы в течение 5–10 сут при 24 °С и 5–10 сут при 4 °С.

Степень разложения нефти исследуемыми штаммами оценивали по суммарному показателю убыли нефти в жидкой среде, определяемому весовым методом (гравиметрия). Для определения общего содержания углеводородов нефти использовали метод ИК-спектроскопии. Подготовку, анализ и измерение водных и почвенных образцов проводили в соответствии с методическими указаниями «Массовая концентрация нефтепродуктов в водах. Методика выполнения измерений ИК-фотометрическим методом»

(ГОСТ Р 8.563-96), «Определение концентрации нефти в почве методом инфракрасной спектрофотометрии» (МУК 4.1.1956-05).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе контактных лабораторных опытов установлено, что скорость усвоения субстрата wybranными штаммами зависела от длины углеродной цепи исследуемого вещества (табл. 1). Субстраты с длиной углеродной цепи  $C_7$  и больше (октан  $C_8H_{18}$ , бензин) усваивались быстрее, чем пентан ( $C_5H_{12}$ ) или гексан ( $C_6H_{14}$ ). В психрофильных условиях n-алканы наиболее активно потреблялись штаммами *Acinetobacter 1* и *Acinetobacter 2*. Ароматические углеводороды (бензол и нафталин) лучше всего утилизировались представителями рода *Pseudomonas*. Скорость деструкции ароматических углеводородов представителями родов *Acinetobacter* и *Arthrobacter* была близкой к скорости деструкции штаммами рода *Pseudomonas*.

**Таблица 1.** Скорость трансформации углеводородов в контактных опытах (температура 4–24 °С)

Table 1. Hydrocarbon transformation rate in contact experiments (temperature 4–24 °C)

Штамм-деструктор	Скорость удаления углеводорода, в долях единицы от начального содержания			
	1ч	6 ч	12 ч	48 ч
Бензин – $C_7H_{17}$ / Пентан – $C_5H_{12}$ / Бензол				
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	0,99/0,99/0,99	0,97/0,97/0,97	0,82/ 0,87 /0,87	0,61/ 0,73/0,73
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	0,97/0,99/0,99	0,86/–/–	0,75/0,85/0,85	0,54/0,74/0,74
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	0,99/–/0,99	0,84/0,86/0,86	0,70/0,82/0,82	0,44/0,69/0,69
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	0,91/0,95/0,99	0,83/0,83/0,83	0,75/0,85/0,85	0,51/0,71/0,71
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	0,97/0,97/–	0,95/0,97/0,86	–/–/–	0,63/0,73/0,73
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	0,96/0,99/0,99	0,84/0,94/0,94	0,84/0,84/0,84	0,72/0,82/0,74
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	0,99/0,99/0,99	0,99/0,99/0,99	0,87/0,83/0,83	0,82/0,82/0,74
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	0,99/0,99/0,99	0,99/0,85/0,88	0,79/0,86/0,81	0,75/0,78/0,78
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	0,97/0,99/0,99	0,99/0,99/0,99	0,85/0, 93/0,92	0,81/0,91/0,91
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	0,96/0,96/0,96	0,91/0,91/0,89	0,85/0,85/0,85	0,81/0,81/0,81
<i>Micrococcus sp. 1</i>	0,94/0,94/0,94	0,95/0,95/0,93	0,87/0,87/0,87	0,83/0,83/0,83
<i>Micrococcus sp. 2</i>	0,99/0,99/–	0,96/0,96/0,96	0,94/0,94/0,95	0,90/0,90/0,92
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	0,99/0,99/0,99	–/–/0,94	0,97/0,99/0,99	0,96/1,00/0,87
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	0,99/0,99/0,99	0,97/0,97/0,96	0,97/0,97/0,93	0,83/0,83/0,69

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

**Таблица 2.** Распределение штаммов по степени гидрофобности  
Table 2. Cultures' distribution by the degree of hydrophobity

Наименование микроорганизмов	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , М*	
	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

Примечание: \* – минимальная концентрация сульфата аммония, при которой образуются клеточные агрегаты.

При деструкции алканов с длиной углеродной цепи 12 и больше отмечена корреляция между степенью гидрофобности поверхности клетки и скоростью потребления субстрата. Например, н-гексадекан (2 г/дм<sup>3</sup>) утилизировался штаммом *Acinetobacter sp. 1* за 24 ч, в то время как *Pseudomonas sp. 3* усваивал его только за 56 ч. При деструкции загрязнения с длиной углеродной цепи C<sub>7</sub> и C<sub>9</sub> скорость деструкции этими штаммами была равной. Аналогичная закономерность сохранялась 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, при этом его количество увеличивалось с увеличением длины углеродной цепи субстрата.

Экзополимер использовался бактериями-деструкторами как дополнительный источник углерода и энергии. Путем сбора и центрифугирования был выделен неочищенный препарат экзополимера, имеющий поверхностно-активные свойства и уменьшающий поверхностное натяжение воды. При внесении препарата в колбу с покрытым нефтепродуктами водным раствором и перемешивании происходило «растворение» нефте-

продуктов в воде (эмульгирование). Неочищенный препарат высушивали при 105 °С, растворяли в воде, при этом экзополимер не терял поверхностно-активных свойств. Экзополимер, продуцированный штаммом *Pseudomonas sp.3*, при выращивании на твердых средах собирался значительно тяжелее, но также имел поверхностно-активные свойства.

Исследована также способность клеток *Pseudomonas sp.3*, *Acinetobacter sp. 1* и *Rhodococcus sp. 1* к адгезии на гидрофобных поверхностях. Прилипание клеток этих организмов определяли путем микроскопирования поверхностей из стекла и капрона после недолговременного контакта с суспензией соответствующей культуры. Результаты показали, что клеток *Acinetobacter sp. 1* осталось на поверхности значительно больше, чем клеток двух других культур.

Результаты опытов по соотношению гидрофобных и адгезивных свойств выделенных штаммов-деструкторов нефтепродуктов и их способности удалять нефть с поверхности твердого тела представлены в табл. 3.

**Таблица 3.** Микробное отделение нефти от поверхности твердых тел  
Table 3. Microbial separation of oil from the solid objects surfaces

Штамм-деструктор	Время отслаивания, ч			
	от речного песка		от тефлонового волокна	
	4 °С	30 °С	4 °С	30 °С
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	28	21	48	22
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	60	60	32	32
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	18	14	16	14
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	не отделяет	60	не отделяет	50
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	28	28	29	32
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	60	28	60	21
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	3	3	не отделяет	не отделяет
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	3	5	не отделяет	5
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	7	2	17	1
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	10	3	124	1
<i>Micrococcus sp. 1</i>	не отделяет	не отделяет	не отделяет	не отделяет
<i>Micrococcus sp. 2</i>	не отделяет	60	17	60
<i>Rhodococcus sp. 1</i>	28	28	19	27
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	не отделяет	60	не отделяет	65

## ВЫВОДЫ

По проведенным исследованиям можно сформулировать следующие выводы. Интродукция в загрязненную углеводородами воду прикрепленных ассоциаций микроорганизмов-деструкторов, способных минерализовать алифатические, ароматические углеводороды и их производные, приводит к существенной интенсификации очистки воды. Опыты по микробному отделению нефтепродуктов от песка и тефлоновой поверхности позволили установить возможность такого рода деструкции и ориентировочное время обработки в зависимости от температуры процесса очистки.

По показателю степени гидрофобности штаммы бактерий, участвующих в процессе разложения нефтепродуктов, можно разместить в ряд по деструктивной активности: *Pseudomonas* < *Acinetobacter* < *Flavobacterium* < *Rhodococcus* < *Micrococcus* < *Arthrobacter*. Данная последовательность позволяет более успешно устанавливать соотношения микроорганизмов-деструкторов в пространственных образованиях микроорганизмов, создаваемых для ведения процессов биологической очистки сточных вод.

На последующих этапах работы планируется проведение исследований параметров биотехнологической очистки углеродсодержащих вод природного водоема, производственных и ливневых сточных вод. В процессе их очистки будут использованы исследованные в лабораторных условиях штаммы нефтеокисляющих бактерий. Для стабильной работы комплексов биологического окисления углеродсодержащих стоков разрабатывается метод интенсификации процессов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Суржко Л.Ф., Финкельштейн З.И., Баскунов Б.П. Утилизация нефти в почве и воде микробными клетками // Микробиология. 2017. № 3. С. 393–398.
2. Квасников Е.К., Ключникова Т.М. Фиксация атмосферного азота микроорганизмами, окисляющими углеводороды // Докл. АН СССР. 1973. Т. 108. N 3. С. 714–716.
3. Романовская В.А., Людвиченко Е.С., Соколов И.Г., Малащенко Ю.Р. Фиксация молекулярного азота метанооксиляющими бактериями // Микробиологический журнал 1980. Т. 42. № 2. С. 683–688.
4. Бабьева И.П., Хасан Моавад, Марченко А.И. Азотфиксация в совместных культурах *Lipomyces* с бактериями // Микробиология. 1977. Т. 46. № 3. С. 270–272.
5. Калининская Т.А. Использование различных источников углерода азотфиксирующими микробными ассоциациями // Микробиология. 1967. Т. 36. № 4. С. 621–627.
6. Емцев В.Т. Об источниках углеродного питания для азотфиксирующих микроорганизмов рода *Clostridium* // Микробиология. 1962. Т. 31. № 1. С. 18–23.
7. Puntus I.F., Sakharovky V.G., Filonov A.E., Boronin A.M. Surface activity and metabolism of hydrocarbon-degrading microorganisms growing on hexadecane and naphthalene // Process Biochemistry. 2005. No. 40. P. 2643–2648.



8. *Mulligan C.N.* Environmental applications for biosurfactants. // *Environmental Pollution*. 2005. № 133. P. 183–198.
9. *Коронелли Т.В., Дермичева С.Г., Коротаева Е.В.* Выживаемость углеводородо-кисляющих бактерий в условиях полного голодания // *Микробиология*. 1938. Т. 57. № 2. С. 298–304.
10. *Batista S.B., Mountheer A.H., Amorim F.R., Totola M.R.* Isolation and characterization of biosurfactantbioemulsifier-producing bacteria from petroleum contaminated sites // *Bioresource Technology*. 2006. No. 97. P. 868–875.
11. *Коронелли Т.В., Дермичева С.Г., Коротаева Е.В.* Выживаемость углеводородо-кисляющих бактерий в условиях полного голодания // *Микробиология*. 1938. № 2. С. 298–304.
12. *Смирнов В.В., Киприанова Е.А.* Бактерии рода *Pseudomonas*. Киев: Наукова думка, 1990. С. 84–111.
13. *Коронелли Т.В., Глинский В.В., Янушка М.Ф., Красникова Т.Н.* Углеводород окисляющая микрофлора вод Балтийского моря и Курского залива, загрязненных мазутом при аварии танкера // *Микробиология*. 1997. Т. 56. № 3. С. 472–478.
14. *Куличевская И. С., Мишехина В. И., Борвенков И. А. и др.* Окисление углеводородов нефти экстремально галофильными архибактериями // *Микробиология*. 1991. № 5. С. 866–869.
15. *Rueter P., Rabus K., Wilkes H. et all.* Anaerobic oxidation of hydrocarbons in crude oil by new types of sulphate-reducing bacteria // *Nature*. 2014. No. 1. P. 455–458.
16. *Квасников Е.И., Ключникова Т.М.* Микроорганизмы-деструкторы нефти в водных бассейнах. Киев: Наукова думка, 1981. 112 с.
17. *Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Makarov S.O., Litvinenko L.V., Cunnin ham C.J., Philp J.C.* Effect of biosurfactants on crude oil desorption and mobilization in a soil system // *Environmental International*. 2005. No. 131. P.155–161.
18. *Коваленко В.В., Фахрутдинов А.И.* Вопросы деструкции нефтепродуктов в донных отложениях озер // Сб. статей. Научный диалог. 2018. С.12–18.
19. *Sorongon M.L., Bloodgood R.A., Burchard R.P.* Hydrophobicity, adhesion, and surface-exposed proteins of gliding bacteria // *Appl Environ Microbiol*. 1991. Vol. 57. No. 11. P.3193–3199.
20. *Huber B., Riedel K., Hentzer M., Heydorn A., Gotschlich A., Givskov M., Molin S., Eberl L.* The csp quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility // *Microbiology*. 2001. Vol. 147. P.251.

*Для цитирования:* Иваненко И. И., Новикова А. М., Лапатина Е.Я. Исследование микроорганизмов-деструкторов углеводородных загрязнений как способ интенсификации очистки воды // *Водное хозяйство России*. 2020. № 6. С. 121–132.

#### **Сведения об авторах:**

**Иваненко Ирина Ивановна**, канд. техн. наук, доцент, кафедра водопользования и экологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный архитектурно-строительный университет» (СПбГАСУ), Россия, 190005, Санкт-Петербург, 2-я Красноармейская, 4; e-mail: i5657@mail.ru

**Новикова Антонина Михайловна**, заведующая лабораторией, кафедра водопользования и экологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный архитектурно-строительный университет» (СПбГАСУ), Россия, 190005, Санкт-Петербург, 2-я Красноармейская, 4.

**Лапатина Елена Яковлевна**, химик-микробиолог, кафедра водопользования и экологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный архитектурно-строительный университет» (СПбГАСУ), Россия, 190005, Санкт-Петербург, 2-я Красноармейская, 4.

#### INVESTIGATION OF HYDROCARBON CONTAMINANTS DESTRUCTING MICROORGANISMS AS A METHOD OF WATER PURIFICATION INTENSIFYING

**Irina I. Ivanenko I.I., Antonina M. Novikova, Elena Y. Lapatina E.Y.**

«Water use and ecology» Department, Saint Petersburg State University of Architecture and Civil Engineering, Saint Petersburg, Russia

**Abstract:** Increased hydrocarbon pollution of the natural environment and water bodies in recent decades has prompted the search for ways to reduce anthropogenic pollution. A number of modern environmental biotechnologies provide for the process of microbial introduction that is introduction of microorganisms with a useful function into the natural environment (soil and water bodies).

The paper presents the results of laboratory studies on the rate of absorption of hydrocarbons by various microorganisms, the study of their hydrophilic/hydrophobic/adhesive properties, as well as the results of the search for a correlation between the degree of hydro/repellence of the cell surface and the rate of consumption of polluting hydrocarbon. Experiments on microbial separation of petroleum products from sand and Teflon surface made it possible to establish the possibility of this kind of destruction and determine the approximate treatment time depending on temperature. In terms of the degree of hydrophobicity, the bacteria strains involved in the decomposition process are placed in a series of activities that allows more successfully establishing the ratios of microorganisms- destructors in spatial communities for biological treatment of wastewater.

**Key words:** petroleum products, destructive microorganisms, nitrogen fixation, hydrophilic-hydrophobic properties, adhesive properties, sand, teflon, rate of destruction, temperature, range of destructive activity, spatial structures.

#### **About the authors:**

Irina I. Ivanenko, Candidate of Technological Sciences, Associate Professor “Water Use and Ecology” Department, Saint Petersburg State University of Architecture and Civil Engineering, 2nd Krasnoarmeyskaya, 4, St. Petersburg, 190005, Russia; e-mail: i5657@mail.ru

**Antonina M. Novikova**, Head of Laboratory of the «Water Use and Ecology» Department, «Saint Petersburg State University of Architecture and Civil Engineering, 2nd Krasnoarmeyskaya, 4, St. Petersburg, 190005, Russia

Elena Y. Lapatina, Microbiological Chemist of the “Water Use and Ecology” Department, Saint Petersburg State University of Architecture and Civil Engineering, 2nd Krasnoarmeyskaya, 4, St. Petersburg, 190005, Russia

**For citation:** *Ivanenko I.I., Novikova A.M., Lapatina E.Y. Investigation of Hydrocarbon Contaminants Destructing Microorganisms as a Method of Water Purification Intensifying // Water Sector of Russia. 2020. No. 6. P. 121–132.*

## REFERENCES

1. *Surzhko L.F., Finkel'shtein Z.I., Baskunov B.P.* Utilizatsiia nefiti v pochve i vode mikrobnymi kletkami [Oil recycling in soil and water by microbial cells] // *Mikrobiologiya*. 2017. No. P. 393.
2. *Kvasnikov E.K., Kliushnikova T.M.* Fiksatsiya atmosfernogo azota mikroorganizmami, oksilialushchimi uglevodorody [Fixation of atmospheric nitrogen by microorganisms oxidizing hydrocarbons] // *Dokl. AN SSSR*. 1973. T. 108. No. 3. P. 714–716.
3. *Romanovskaia V.A., Liudvichenko E.S., Sokolov I.G., Malashenko Iu.R.* Fiksatsiya molekuliarnogo azota metanoksilialushchimi bakteriyami [Fixing molecular nitrogen with methanoxidation bacteria] // *Mikrobiologicheskii zhurnal*. 1980. T. 42. № 2. P. 683–688.
4. *Bab'eva I.P., Khasan Moavad, Marchenko A.I.* Azotfiksatsiia v sovместnykh kul'turakh *Lipomyces* s bakteriyami [Nitrogen fixation in joint cultures *Lipomyces* with bacteria] // *Mikrobiologiya*. 1977. T. 46. № 3. P.270–272.
5. *Kalininskaia T.A.* Ispol'zovanie razlichnykh istochnikov ugleroda azotfiksiruiushchimi mikrobnymi assotsiatsiyami [Use of different carbon sources by nitrogen-fixing microbial associations] // *Mikrobiologiya*. 1967. T. 36. № 4. P. 621–627.
6. *Emtsev V.T.* Ob istochnikakh uglerodnogo pitaniya dlia azotfiksiruiushchikh mikroorganizmov roda *Clostridium* [On sources of carbon nutrition for nitrogen-fixing microorganisms of genus *Clostridium*] // *Mikrobiologiya*. 1962. T. 31. № 1. P.18–23.
7. *Puntus I.F., Sakharovky V.G., Filonov A.E., Boronin A.M.* Surface activity and metabolism of hydrocarbon-degrading microorganisms growing on hexadecane and naphthalene // *Process Biochemistry*. 2005. № 40. P. 2643–2648.
8. *Mulligan C.N.* Environmental applications for biosurfactants // *Environmental Pollution*. 2005. № 133. P. 183–198.
9. *Koronelli T.V., Dermicheva S.G., Korotaeva E.V.* Vyzhivaemost' uglevodorodoksilialushchikh bakterii v usloviyakh polnogo golodaniia [Survival of hydrocarbon-oxidizing bacteria in conditions of complete starvation] // *Mikrobiologiya*. 1938. T. 57. № 2. P. 298–304.
10. *Batista S.B., Mounteer A.H., Amorim F.R., Totola M.R.* Isolation and characterization of biosurfactant bioemulsifier-producing bacteria from petroleum contaminated sites. // *Bioresource Technology*. 2006. № 97. P. 868–875.
11. *Koronelli T.V., Dermicheva S.G., Korotaeva E.V.* Vyzhivaemost' uglevodorodoksilialushchikh bakteriy v usloviyakh polnogo golodaniya [Survival of hydrocarbon-oxidizing bacteria in conditions of complete starvation] // *Mikrobiologiya*. 1938. № 2. P. 298–304.
12. *Smirnov V.V., Kiprianova E.A.* Bakterii roda *Pseudomonas* [Bacteria of the genus *Pseudomonas*]. Kiev: Naukova dumka. 1990. P. 84–111.
13. *Koronelli T.V., Glinskii V.V., Ianushka M.F., Krasnikova T.N.* Uglevodorod oksilialushchaia mikroflora vod Baltiiskogo moria i Kurskogo zaliva, zagryaznennykh mazutom pri avariyi tankera [Hydrocarbon oxidizing micro/flora of waters of the Baltic Sea and the Gulf of Kursk contaminated with fuel oil in the accident of tanker] // *Mikrobiologiya*. 1997. T. 56. № 3. P. 472–478.
14. *Kulichevskaia I.S., Mshgekhnina V.I., Borvenkov I.A. et al.* Okislenie uglevodorodov nefiti ekstremal'no galofil'nymi arkhibakteriyami [Oxidation of petroleum hydrocarbons by extreme halophilic archibacteria] // *Mikrobiologiya*. 1991. № 5. P. 866–869.
15. *Rueter P., Rabus K., Wilkes N. et al.* Anaerobic oxidation of hydrocarbons in crude oil by new types of sulphate-reducing bacteria // *Nature*. 2014. № 1. P. 455–458.
16. *Kvasnikov E.I., Kliushnikova T.M.* Mikroorganizmy – destruktory nefiti v vodnykh basseynakh [Microorganisms - oil destructors in water basins]. Kiev: Naukova dumka, 1981. 112 p.

17. *Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Makarov S.O., Litvinenko L.V., Cunnin ham C.J., Philp J.C.* Effect of bio/surfactants on crude oil desorption and mobilization in a soil system // *Environmental International*. 2005. № 131. P.155-161.
18. *Kovalenko V.V., Fakhrutdinov A.I.* Voprosy destrukttsii nefteproduktov v donnykh otlozheniyakh ozer [Issues of destruction of petroleum products in bottom sediments of lakes] // *Sb. statei. Nauchnyi dialog*. 2018. P. 12–18.
19. *Sorongon M.L., Bloodgood R.A., Burchard R.P.* Hydrophobicity, adhesion, and surface-exposed proteins of gliding bacteria // *Appl Environ Microbiol*. 1991. Vol. 57. № 11. P. 3193–3199.
20. *Huber B., Riedel K., Hentzer M., Heydorn A., Gotschlich A., Givskov M., Molin S., Eberl L.* The cep quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility // *Microbiology*. 2001. Vol. 147. P. 251.