

УДК 502.05, 502.5, 504.05, 556

ПРОЦЕССЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ В ЗОНЕ АЭРАЦИИ И ПОДЗЕМНЫХ ВОДАХ

© 2018 г. В.С. Путилина, И.В. Галицкая, Т.И. Юганова

*Институт геоэкологии им. Е.М. Сергеева РАН
Уланский пер., 13, стр.2, Москва, 101000, Россия
E-mail: vputilina@yandex.ru, galgeoenv@mail.ru, tigryu@gmail.com*

Поступила в редакцию 28.11.2017 г.

Настоящая статья представляет собой аналитический обзор современной литературы, касающейся проблем самоочищения природной среды от нефтяных углеводородов (УВ) посредством микробиологической деградации. Рассмотрены этапы самоочищения, штаммы микроорганизмов, способных разлагать нефтяные УВ, механизмы разложения и, как результат, продукты аэробного и анаэробного разложения. Изучение состава подземных вод, подвергшихся нефтяному загрязнению, показало, что биодegradация в анаэробной среде может удалять из подземных вод значительные количества УВ: анаэробные процессы обеспечивали 60% деградировавшего общего растворенного органического углерода (РОУ), из них 5% – путем восстановления Mn, 19% – восстановления Fe и 36% – метаногенеза. Аэробное разложение – 40% деградировавшего РОУ. Результаты моделирования показали, что анаэробные процессы обеспечивали больше половины удаления РОУ, что согласовывалось с геохимическими оценками.

Парафины устойчивы к химическим воздействиям, но легко поддаются ферментативному (микробиологическому) окислению. Циклопарафины и ароматические УВ, напротив, более чувствительны к химическому окислению, чем к биологическому. При благоприятных условиях практически все соединения, вплоть до самых тяжелых фракций, подвергаются биодеструкции. Ее скорость быстро снижается в направлении *n*-алканы > олефины > низкомолекулярные ароматические УВ > изоалканы > циклоалканы > ПАУ > смолисто-асфальтеновые соединения. Приведены примеры стимуляции природной нефтеокисляющей микрофлоры.

Ключевые слова: нефть, нефтяные углеводороды, биодegradация, штаммы микроорганизмов, аэробные процессы, анаэробные процессы, изменение свойств нефти.

DOI: 10.7868/S0869780318030055

Компоненты нефти и продукты ее переработки характеризуются токсичными, мутагенными и канцерогенными свойствами и наносят существенный вред природной среде не только в месте разлива, но и по пути миграции. Скорость распространения нефти в различных средах, ее способность к природной деструкции играют большую роль при оценке масштабов загрязнения. Исследования процессов деградации нефти и нефтепродуктов чрезвычайно актуальны в связи с возрастающей необходимостью получения более точных оценок степени и характера загрязнения окружающей природной среды.

Загрязнение почв и пород зоны аэрации, а также водоносных горизонтов происходит при инфильтрации нефти и нефтепродуктов в более глубокие слои. Существенное влия-

ние на массоперенос нефтяного загрязнения оказывают физические и физико-химические свойства нефти – плотность, вязкость, растворимость, температура кипения, а также сорбционная способность почв и пород. Загрязненные нефтью или нефтепродуктами верхние слои почв и пород могут представлять опасность в случае ее просачивания в водоносные горизонты, используемые для водоснабжения [2, 4, 8, 12].

Настоящая статья посвящена детализации микробиологических процессов, происходящих в зоне аэрации и подземной гидросфере, направленных на самоочищение от нефтяного загрязнения, и описанию оптимальных условий для максимальной трансформации нефтяных углеводородов.

ЭТАПЫ САМООЧИЩЕНИЯ ПОЧВ И ПОРОД

Способность к самоочищению от нефтяного загрязнения – уникальное свойство природной среды. Под самоочищением понимают совокупность физических, химических, биохимических и гидробиологических процессов, обуславливающих разложение и утилизацию загрязняющих веществ и ведущих к восстановлению естественных характеристик среды. Процессы самоочищения с позиций гидрогеологии, гидрохимии, гидробиологии рассматриваются во многих работах, где изучается влияние разбавления, осаждения, химического превращения и биологической переработки нефтяных углеводородов [1, 7, 12, 13]. Оценка самоочищения дается по отношению к легкоокисляемому органическому веществу, определяемому по показателю БПК (биологическое потребление кислорода) или ХПК (общее химическое потребление кислорода).

Природное очищение почв и пород от нефтяного загрязнения происходит в течение длительного периода, который в зависимости от почвенно-климатических условий и состава нефти варьирует от нескольких месяцев до нескольких лет. Этот период можно разделить на несколько этапов по преобладающим процессам освобождения отложений от нефтяного загрязнения [1].

На первом этапе нефть, попавшая на поверхность земли, подвергается различным процессам выветривания: испарению, дисперсии, разложению микроорганизмами, растворению и фотоокислению. Все эти природные процессы совместно действуют на нефть с различной степенью и разной скоростью в зависимости от природы исходной нефти, условий окружающей среды и продолжительности воздействия. Помимо этого, разлитая нефть также может подвергаться антропогенным воздействиям, включая контролируемое выжигание и применение диспергентов [26].

В результате процессов физико-химического выветривания происходит удаление с поверхности земли низкомолекулярных составляющих нефти – газообразных и легколетучих соединений. Один из первых процессов самоочищения – испарение. Оно касается в основном летучих фракций нефти. Алканы и алкены обычно более летучи, чем ароматические соединения. При выветривании наиболее существенные изменения в составе сырой нефти будут связаны с потерей алифатических углеводородов низкого молекулярного веса. Именно они могут быть

основными загрязнителями воздуха на участках разливов [29]. Асфальтены – наиболее трудно перерабатываемые компоненты сырой нефти в процессе выветривания. Однако было показано, что они не являются консервативными и подвержены некоторым изменениям при деградации подповерхностной и поверхностной нефти [26].

Как показали исследования [12], наиболее интенсивно процесс испарения протекает в первые часы, и уже через 0.5 час после попадания нефти на поверхность земли летучих соединений не остается. К концу первых суток испаряется 50% соединений, содержащих C_{13} , C_{14} ; к концу 3-й недели – 50% соединений C_{17} . Установлено, что в первые сутки при $T = 20–22$ °С испаряется до 80% технического бензина, 22% керосина, до 15% нефти и около 0.3% мазута. В целом потери при испарении составляют около $\frac{1}{3}–\frac{2}{3}$ от всей массы разлитой по поверхности нефти. Скорость испарения зависит от плотности нефти, температуры среды и степени растекания нефти на поверхности. Испарению также способствует ветер, и при скорости ветра до 6–8 м/с испарение составляет около 60% [6].

Значительный вклад в самоочищение поверхности земли вносит фотоокисление. Фотохимические превращения загрязняющих веществ в природной среде осуществляются под действием ультрафиолетовой составляющей солнечного излучения ($\lambda = 310$ нм) при участии свободных радикалов – соединений, имеющих неспаренный электрон и находящихся в возбужденном состоянии, а также в присутствии ионов с переменной валентностью, например, Fe, Cu, которые катализируют окислительные процессы. Лабораторные эксперименты показали, что за 8 час эффективного освещения фотоокислением могут быть разрушены 0.2 т/км² нефти [18]. Было установлено [24], что насыщенные соединения устойчивы к окислению, но ароматические соединения особенно чувствительны к фотоокислению. Большой размер и увеличение алкильного замещения ускоряют окисление ароматических соединений.

В процессе фотоокисления *легкой сырой нефти* значительно уменьшается количество ароматической фракции с одновременным увеличением фракции смол и асфальтенов. При этом происходит снижение средней молекулярной массы компонентов нефти и образование окисленных соединений: содержание кислорода в нефти возрастает по мере усиления облучения. В результате фотоокисления повышается биодоступность нефти.

Под действием солнечного света в *высокоасфальтеновой нефти* происходит увеличение массы, содержания кислорода и C^{13} в асфальтенах. Увеличение массы асфальтенов может быть результатом ассимиляции окисленных ароматических остатков, которые восприимчивы к добавлению кислорода в структуру [26].

В зоне аэрации содержится достаточное количество кислорода, и основные процессы в этих условиях будут окислительными: химическими и микробиологическими. Здесь происходят следующие этапы общего процесса трансформации нефтяного загрязнения.

На втором этапе аэробная деградация является эффективным способом разложения нефтяных углеводородов (УВ). Каждый следующий вегетационный период характеризуется потерей в среднем около 20% нефти. Окисление нефтяных соединений может приводить к их упрощению, что связано с деятельностью окисляющих УВ микроорганизмов. Благодаря их активности происходит трансформация, главным образом, парафиновых соединений (предельные неразветвленные УВ) и простых ароматических УВ. Для данного этапа характерны соокислительные условия биодegradации нефтяных соединений.

Более глубокое разложение нефтяного загрязнения происходит в основном в подземной гидросфере на третьем этапе при сочетании аэробных и анаэробных процессов.

Третий этап деградации нефтяных УВ наиболее длительный. В зоне аэрации в этот период присутствуют, в основном, самые сложные компоненты нефти, трудно разлагаемые микроорганизмами и поступающие в подземные воды. Для большинства этих соединений характерны, главным образом, кометаболические пути биодegradации [1].

Парафины, циклопарафины (иначе циклоалканы или нафтены), циклические насыщенные УВ (имеют замкнутые структуры-циклы), ароматические УВ (в структуре имеют бензольное кольцо) — наиболее распространенные загрязнители окружающей среды. Парафины устойчивы к химическим воздействиям, но легко поддаются ферментативному (микробиологическому) окислению. Циклопарафины и ароматические УВ, напротив, более чувствительны к химическому окислению, чем к биологическому. При благоприятных условиях практически все соединения, вплоть до самых тяжелых фракций, подвергаются биодеструкции. Ее скорость быстро снижается в направлении *n*-алканы (алифатические раз-

ветвленные и неразветвленные предельные УВ) > олефины (непредельные УВ, не содержат циклы в структуре) > низкомолекулярные ароматические УВ > изоалканы (разветвленные алканы) > циклоалканы (нафтены) > ПАУ (полициклические ароматические УВ) > смолисто-асфальтеновые (высокомолекулярные маслянистые и твердые компоненты) соединения [6].

На скорость самоочищения почв и горных пород от нефтяных УВ влияет исходная концентрация и тип УВ, а также почвенно-климатические условия. Наиболее быстрое снижение концентрации наблюдается в первые несколько месяцев с момента загрязнения. Это обусловлено, в первую очередь, процессами испарения легких фракций, физическим выносом с водными потоками, фотохимическим окислением [10]. В дальнейшем скорость самоочищения замедляется и зависит в большей степени от активности почвенной микробиоты. Так, например, степень самоочищения от легких нефтяных УВ (дизельное топливо) при исходной концентрации 5 г/кг за 1.5 месяца составляет до 80%. При загрязнении почвы нефтью в количестве 10–40 л/м² убыль за 1 год составила 40–51%, за 2 года — 56–61%. Прогнозируемое самоочищение слоя почвы 0–60 см от нефти до концентрации 500 мг/кг после слабого загрязнения будет достигнуто через 6 лет, после среднего — через 11 лет, после сильного — через 16 лет [15].

Таким образом, в основе механизма деградации нефти в почвах и породах лежат физические, химические и биологические процессы, интенсивность которых меняется в зависимости от времени, прошедшего с момента загрязнения. Особенность процесса деградации — разная скорость преобразования отдельных компонентов нефти. Соединения, полученные в результате химических преобразований УВ различных классов, включаются в биогеоценотический круговорот и образуют органоминеральные комплексы.

ШТАММЫ МИКРООРГАНИЗМОВ, СПОСОБНЫХ ТРАНСФОРМИРОВАТЬ НЕФТЯНЫЕ УГЛЕВОДОРОДЫ

В деградации нефтяных УВ первичными посредниками являются бактерии и грибы. Однако бактерии оказались более универсальными, чем грибы, и поэтому могут играть большую роль в ходе трансформации УВ. Самые важные роды бактерий, разлагающие УВ в почвенной среде, — *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и многие другие, не поддающиеся культивированию бактериальные кло-

ны. Среди грибов *Aspergillus*, *Candida*, *Penicillium*, *Trichoderma* и другие роды разлагают УВ, часто выделяемые из почвы. Гифообразные структуры и увеличенная площадь поверхности грибов способствуют лучшему проникновению и контакту с УВ. Внеклеточные ферменты грибов, например, оксидазы, могут дополнительно повышать их активность в почве [18].

Наиболее характерные виды микроорганизмов, перерабатывающих нефть, были обнаружены в пластовых водах (в заводняемых пластах нефтяных месторождений) и отнесены к роду *Pseudomonas* – *P. putida*, *P. Chlororaphis*, *Pseudomonas* sp. Один из наиболее часто упоминающихся в литературе окислителей УВ – *P. putida*. Косвенным подтверждением деятельности углеводородокисляющих бактерий в заводняемых пластах являлось обнаружение прироста растворенных окисленных органических соединений на участках пластовых и закачиваемых вод. Более того, с деятельностью углеводородокисляющей микрофлоры, образующей окисленные продукты из нефти, связывают распространение анаэробных микроорганизмов – метанобразующих и сульфатовосстанавливающих, потребляющих окисленные субстраты [14]. Присутствие сероводорода в пробах показывало, что развивался процесс сульфатредукции. В культуральной жидкости указанного сообщества бактерий, развивающегося на минеральных средах с нефтью разного типа, количественно было выявлено появление ацетата и качественно – высших жирных кислот: C_{14} , C_{16-18} , C_{20} . Появление ацетата в культурах углеводородокисляющих бактерий – результат деятельности бактерий, окисляющих нефть. В дальнейшем ацетат служит субстратом для анаэробных метанобразующих бактерий и потребляется в процессах сульфатредукции.

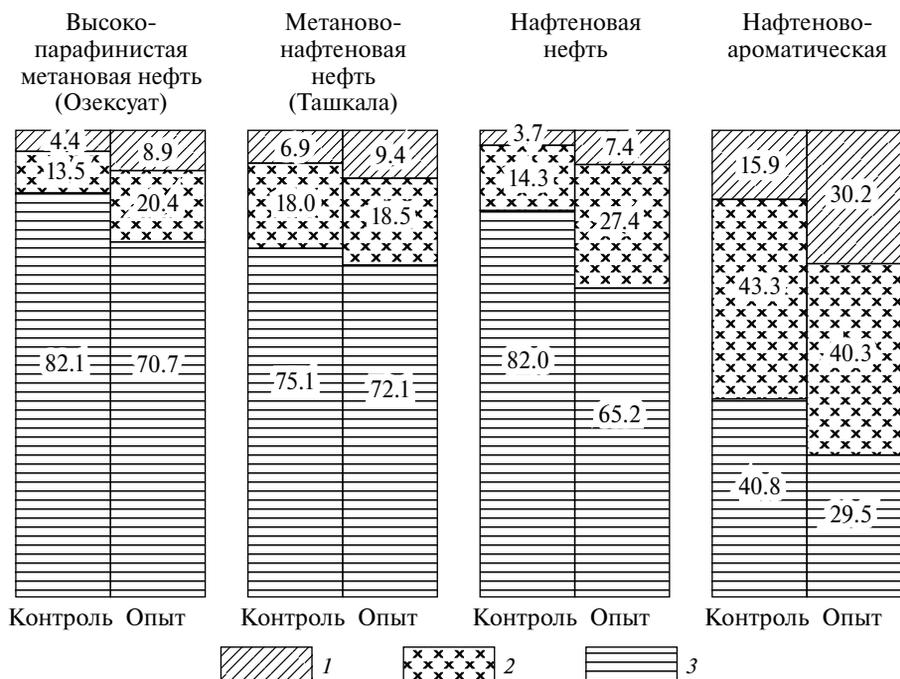
Развитие нефтеокисляющей микрофлоры в природной среде, подвергшейся нефтяному загрязнению, ограничивается рядом факторов. Это низкая температура, недостаток биогенных элементов (прежде всего азота и фосфора), недостаток кислорода, избыточная кислотность, низкая эффективность деградации высоких концентраций нефти и нефтепродуктов, отсутствие катаболических (расщепляющих) плазмид в клетках микроорганизмов-нефтедеструкторов. Плазмиды играют важную роль в адаптации микроорганизмов к изменяющимся условиям окружающей среды и придают бактериям дополнительные свойства, которые в определенных условиях обеспечивают им временные преимущества по сравнению с бесплазмидными бактериями [3, 18].

Большинство нефтяных УВ очень гидрофобны, и это ограничивает способность микроорганизмов вступать в контакт и разлагать эти УВ. Микробы, способные разлагать УВ, преодолевают это препятствие, производя биосурфактанты (поверхностно-активные вещества – ПАВ, которые облегчают эмульгацию УВ) [16, 20]. ПАВ, произведенные микробами, имеют также и другое предназначение: облегчение подвижности клеток на твердых поверхностях или прилипание/отделение к/от поверхности или биопленки. Например, для алканов со средней и большой длиной цепи микроорганизмы могут получить доступ к ним, либо прилипая к каплям УВ, либо посредством ПАВ. На способность микроорганизмов разлагать углеводороды влияют различные факторы. Наиболее существенные из них – химическая структура УВ; присутствие активной микробной популяции, способной разлагать УВ; условия окружающей среды, оптимальные для деятельности микроорганизмов, которая основана на их ферментативной активности. Ферменты – сложные органические вещества, вырабатываемые живыми организмами. Эти соединения катализируют биохимические реакции и устойчивы к резким изменениям внешних условий. Для проявления их активности в почвах существуют оптимальные температурные и кислотно-щелочные условия ($T = 30-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $\text{pH } 5-7$) [18, 20].

Как известно, углеводородокисляющие микроорганизмы относятся ко многим таксономическим группам. В настоящее время установлено свыше 100 родов бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов, обладающих способностью усваивать УВ. От физиологических особенностей каждого рода микроорганизмов зависит направленность процесса деструкции индивидуальных УВ, обладающих различной степенью устойчивости к окислению, и их смесей.

ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ НЕФТИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПРОЦЕССОВ БИОДЕГРАДАЦИИ

При биогенном окислении в аэробных условиях происходят существенные изменения в групповом углеводородном составе нефти, приводящие к переходу одного геохимического типа нефти к другому (рисунок) [13]. Например, *высокопарафиновая* нефть метанового типа под влиянием жизнедеятельности микроорганизмов становится более тяжелой, повышается ее вязкость и содержание асфальтово-смолистых веществ,



Изменение группового химического состава нефти из различных месторождений под влиянием биогенного фактора: 1 – асфальто-смолистые компоненты, 2 – ароматические УВ, 3 – метановые и нефтяные УВ [13].

уменьшается содержание твердых парафинов. В ее групповом углеводородном составе происходит перераспределение содержания отдельных УВ с уменьшением количества метановых групп (нормального и изостроения), а также ароматических УВ, входящих в состав керосиновых фракций. Общее содержание нефтяных (циклоалканов) и ароматических УВ в нефти возрастает. Таким образом, метановые нефти под влиянием биогенного фактора изменяются с приближением к метаново-нефтяному типу.

Нефть *метаново-нефтяного* типа под влиянием биогенного фактора изменяется в том же направлении: повышается ее вязкость, в результате чего она утяжеляется; в ней также увеличивается содержание асфальто-смолистых веществ, уменьшается количество твердых парафинов. Углеводородный состав изменяется, как и в метановой нефти: уменьшается количество метановых УВ и ароматических соединений, но последние только в керосиновых фракциях. В целом, в составе метаново-нефтяной нефти увеличивается содержание нефтяных и ароматических УВ.

В условиях биогенного окисления нефти *нефтяного* типа с высоким содержанием нефтяных УВ растет удельный вес, вязкость, содержание асфальто-смолистых компонентов и кислотное число в маслах. В углеводородном

составе такой нефти уменьшается содержание метановых и нефтяных УВ. В отличие от других рассмотренных выше типов нефти количество ароматических УВ, входящих в состав керосиновых фракций, увеличивается. Таким образом, в результате жизнедеятельности микроорганизмов окисление нефтяной нефти сопровождается повышением в ее составе доли ароматических и снижением доли метановых и нефтяных УВ.

Окисление тяжелой нефти *нефтяно-ароматического* типа сопровождается дальнейшим ее осмолением со значительным повышением удельного веса и вязкости. В отличие от других изученных типов нефти, в результате биогенного окисления в маслах нефтяно-ароматической нефти повышается и кислотное, и эфирное число. В углеводородном составе такой нефти уменьшается содержание всех групп УВ: метановых, нефтяных и ароматических – за счет повышения асфальто-смолистых компонентов.

Таким образом, при биодegrадации исследованных типов нефти в их групповом составе происходят серьезные изменения: возрастает в 1.4–2 раза относительное содержание асфальто-смолистых компонентов, в 1.02–1.9 раза – ароматических УВ (исключение составляет нефтяно-ароматическая нефть). Относительное содержание метановых и метаново-нефтяных УВ по сравнению с контролем снижается до 1.4 раза [13].

ПРОЦЕССЫ САМООЧИЩЕНИЯ

Установлено многофазное существование нефтяных соединений (НС) в подземной гидросфере: а) свободная форма, не смешивающаяся с водой, в виде так называемых “линз”, мигрирующих вместе с подземными водами; б) НС, адсорбированные почвами и горными породами зоны аэрации; в) растворенные в воде эмульгированная и газовая фазы [9, 11]. После первичного поступления нефтяного загрязнения в почвы и породы и инфильтрации в подземные воды трансформация НС происходит в большей мере за счет растворения, испарения, физико-химической сорбции, окисления, биологической переработки.

Окисление нефти наиболее полно происходит в аэробных условиях. Этот процесс сопряжен с интенсивным поглощением кислорода. Полное потребление кислорода одним миллиграммом различных НС колеблется от 0.29 до 1.60 мг. Распад взвешенной нефти протекает медленно. За 18 суток разложение 1 мг нефти требует 0.5 мг кислорода. Исследования [9] показали, что кислород внедряется в молекулу УВ по связи С–Н, а не С–С, хотя энергия разрыва связи С–Н для большинства углеводородов больше, чем связи С–С. Окислительному влиянию кислорода в той или иной степени подвержены все УВ, среди которых, наибольшей реакционной способностью к окислению обладают соединения, содержащие в своем составе третичный углеводородный атом (нафтеново-ароматические УВ и др.). Продуктами окисления УВ при таких условиях чаще всего являются различные спирты, альдегиды, кетоны, кислоты, смолы и другие вещества. Химическому окислению подвержены более легкие компоненты нефти.

Главный процесс разложения сырой нефти и важный природный процесс истощения загрязнения – биодegradация. Скорости биодegradации варьируют в зависимости от типа микробных популяций, природы УВ и геохимических и гидрологических условий среды. Скорость и степень, до которой разлагаются УВ, зависят также от специфических условий участка, размера и структурных особенностей индивидуальных компонентов, а также от их растворимости. УВ могут содержать алифатические, ароматические, циклические (или алициклические), полициклические, ненасыщенные или разветвленные компоненты. Для их разрушения требуются различные типы микроорганизмов. А некоторые компоненты довольно устойчивы к биодegradации, например разветвленные группы, особенно полярные соединения

из-за разветвленной и циклической природы, которая и объясняет их продолжительную устойчивость (десятилетия) [28].

В целом, нефтяные УВ и другие органические молекулы с множеством связей углерод–водород являются хорошими источниками питания – донорами электронов для микроорганизмов, поскольку содержат высокоэнергетические электроны. В процессе дегradации УВ бактерии используют множество разнообразных природных акцепторов электронов. Расходование этих конечных акцепторов электронов не произвольно, а базируется на эффективности передачи энергии и их доступности [16, 29]. Самый обычный неорганический акцептор электронов в почвах и подземных водах – растворенный кислород. Когда кислород исчерпан, бактерии будут предпочтительно расходовать следующий наиболее эффективный акцептор электронов, обычно это нитрат (NO_3^-) или нерастворимый марганец (Mn^{4+}). После исчерпания NO_3^- и Mn^{4+} бактерии будут использовать трехвалентное железо (Fe^{3+}), сопровождаемое сульфатом (SO_4^{2-}) и углекислым газом (CO_2). Когда акцепторы электронов ограничены, метаболиты нефти могут непрерывно генерироваться в течение нескольких лет. Это, вероятно, является причиной того, почему шлейфы нефтяного происхождения могут сохраняться в подземных водах в течение многих десятилетий [23, 28].

В ходе восстановления акцепторов электронов вырабатываются CO_2 , аммиак (NH_3), растворимые марганец (Mn^{2+}) и железо (Fe^{2+}), сульфид (S^{2-}) и метан (CH_4) [8, 23].

Бактерии, ответственные за биодegradацию, обычно характеризуются своими конечными электроноакцепторными процессами (КЭАП). Типы бактерий: аэробные, использующие растворенный кислород как свой КЭАП, нитрат-восстанавливающие, железо- и марганец-восстанавливающие, серо-восстанавливающие и метаногенные бактерии. Скорости биодegradации для различных типов нефтяных УВ зависят от действующих КЭАП. Последовательность предпочтительных электроноакцепторных процессов формирует в шлейфах загрязнителя зоны процессов, доминирующих в различных окислительно-восстановительных условиях. Можно использовать геохимические и микробиологические данные, чтобы очертить такие зоны и получить информацию относительно возможных скоростей дегradации [23, 29].

Питательные вещества – очень важные компоненты для успешной биодegradации углеводородных поллютантов, особенно азот, фосфор

и в некоторых случаях железо. Ограничивающим фактором для деградации нефти становится доступность азота и фосфора из-за их низкого содержания в воде. Поэтому для усиления биodeградации нефтяных поллютантов необходимо добавление питательных веществ. С другой стороны, их чрезмерные концентрации могут ингибировать биodeградационную активность [20]. Оптимальные концентрации этих биогенных элементов усиливают биodeградацию до 70%. Наибольшая скорость окисления нефти бактериями отмечается при использовании аммонийного азота. Для полного окисления 1 мг нефтепродуктов в анаэробных условиях необходимо примерно 4 мг нитратов.

К источнику фосфора микроорганизмы относятся избирательно: из двух соединений $\text{KН}_2\text{PО}_4$ и $\text{K}_2\text{НPО}_4$ второе в значительно большей степени влияет на биodeградацию благодаря оптимальному соотношению концентрации ионов калия и фосфора. Отсутствие азота уменьшает скорость окисления нефти в 10 раз, отсутствие фосфора – в 4 раза [12].

Во многих микробиологических средах комбинация упомянутых соединений, помимо источника биогенных солей, является буферной смесью, служащей для стабилизации кислотности (рН) раствора, которая заметно влияет на скорость окисления нефтяных УВ. Известно, что микроорганизмы сами могут регулировать рН среды в нужную для них сторону, но эта их способность ограничена.

Отрицательное влияние на скорость биodeградации нефтяных УВ оказывает рост солености среды: при изменении солености на 1% период их полураспада увеличивался на 22 часа [5].

Температура воды – один из наиболее значимых факторов, определяющий скорость биохимического окисления нефти и нефтепродуктов. В интервале температур 6–15 °С интенсивность трансформации нефти снижается в 2.5–4.0 раза; а при 37 °С рост бактерий резко замедляется. Полностью прекращается деятельность микроорганизмов при температуре выше 45 °С [5]. Все перечисленные параметры: концентрация растворенного кислорода, температура, рН среды, биогенные элементы, соленость, – относятся к так называемым экофакторам, т.е. свойствам окружающей среды, которые меняются во времени. Но существуют еще и такие факторы, как изменение химического состава УВ, изменения в структуре микробного сообщества, появление продуктов распада и жизнедеятельности микро-

организмов, которые могут оказывать существенное влияние на биodeградацию нефтяных УВ.

Концентрация органического субстрата (нефтяные УВ) регулирует интенсивность роста бактерий. Существует порог насыщения, при котором скорость роста максимальна. В разбавленной культуре степень утилизации органического вещества выше, чем в концентрированной, т.е. при равных условиях поступления органического вещества скорость роста бактерий выше в разбавленной среде. При высоких концентрациях органических веществ в водоеме происходит резкое обеднение кислородом, в результате чего в воде накапливаются недоокисленные продукты, способные взаимодействовать между собой, вступать в реакции полимеризации, конденсироваться и образовывать твердые продукты, оседающие на дно. С увеличением молекулярного веса соединений и образованием устойчивых форм пищевая ценность органических соединений падает [18].

СРАВНЕНИЕ АЭРОБНОЙ И АНАЭРОБНОЙ МИКРОБИАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ В ПОДЗЕМНЫХ ВОДАХ

Принято считать, что биodeградация нефтяных УВ в аэробных и субаэробных средах – более эффективный механизм истощения загрязнения, чем в анаэробных средах. Долгое время считалось, что в анаэробных условиях более глубоких горизонтов процессы природной биodeградации протекают очень медленно [27]. Однако исследования [21, 23, 25] показали, что процессы биodeградации в анаэробных условиях проходят столь же эффективно, как и в аэробных.

Сравнение количества разложенных УВ в аэробных и анаэробных процессах в подземных водах проводилось в работах [21, 23]. Продолжительный мониторинг нефтяного шлейфа показал, что концентрации общего растворенного органического углерода и растворенного кислорода вблизи поверхности водоносного горизонта ниже по потоку от нефтяного тела оставались относительно устойчивыми при предположении, что деградация шлейфа достигала равновесия.

Ранние наблюдения геохимических процессов в подземных водах [22] обратили внимание на важность анаэробных процессов для удаления УВ и управления миграцией шлейфов. Известно, что аэробная биodeградация – эффективный процесс удаления УВ. Однако детальная характеристика [19] и моделирование [23] шлей-

фа УВ в подземных водах показали, что значительное удаление УВ также происходит в центральном анаэробном ядре шлейфа. Наблюдалось последовательное расхождение конечных акцепторов электронов в сочетании с селективной структурно-зависимой биодegradацией углеводородных соединений. Анаэробная биодegradация проходила от восстановления марганца до восстановления железа, когда оксиды марганца были истощены. Показано, что восстановление железа очень эффективно при удалении УВ. Когда Fe^{+3} истощилось, преобладающим анаэробным процессом биодegradации стал метаногенез. В анаэробной зоне со временем увеличивалась концентрация восстановленных химических разновидностей Mn^{2+} , Fe^{2+} и CH_4 , в последовательности: восстановление Mn, восстановление Fe и метаногенез. Последний был менее эффективен при удалении УВ, и в ядре шлейфа наблюдалось повышение их концентраций [23].

Но в целом, *основными процессами в анаэробном шлейфе были восстановление Fe^{+3} и метаногенез.*

Изучение состава подземных вод, подвергшихся нефтяному загрязнению, показало, что биодegradация в анаэробной среде может удалять из подземных вод значительные количества УВ: анаэробные процессы обеспечивали 60% дегradировавшего общего РОУ, из них 5% – путем восстановления Mn, 19% – восстановления Fe и 36% – метаногенеза, а аэробное разложение – 40%. Результаты моделирования указывают, что анаэробные процессы обеспечивают больше половины удаления РОУ на этом участке, что согласуется с геохимическими оценками.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В АНАЭРОБНОЙ ЧАСТИ НЕФТЯНОГО ШЛЕЙФА

Изучение пространственного распределения микроорганизмов в анаэробной части углеводородного шлейфа нефтяного загрязнения проведено методом наиболее вероятной численности (MPN) [17]. Определены характеристики пространственного распределения шести физиологических типов бактерий: аэробы, денитрификаторы, восстановители железа, гетеротрофные ферментеры, сульфатредукторы и метаногены. На фоновой площадке были обнаружены только аэробы и возбудители брожения. В пределах шлейфа результаты подсчета микроорганизмов согласовывались с концептуальной моделью последовательных процессов аэробной дегradации, восстановления Mn/Fe и дегradации путем мета-

ногенеза – анаэробной дегradации. В загрязненном водоносном горизонте присутствовали 10^4 – 10^5 микроорганизмов-восстановителей железа на грамм по сравнению с их отсутствием в незагрязненной фоновой области. Аналогично в шлейфе обнаружены 10^2 метаногенов на 1 г и ни одного – на фоновой площадке. Восстановители железа формировали основную часть микробной популяции в бескислородной зоне шлейфа. Области, развивающиеся от железовосстанавливающих до метаногенных условий, были четко очерчены на основе микробных популяций и обычно занимали от 25% до 50% мощности шлейфа. В целом, большое количество микроорганизмов было найдено ближе к нефтяному телу и в верхней половине шлейфа. Денитрифицирующие бактерии и восстановители сульфата присутствовали в меньшем количестве, чем все другие типы микроорганизмов, в соответствии с низкой доступностью нитрата и сульфата в подземных водах.

Исследования микробных популяций на участке Bemidji подтвердили, что за природное истощение УВ в шлейфе отвечали микробиально опосредованные реакции и анаэробная биодegradация. На распределение и эволюцию популяций в углеводородном шлейфе влияют свойства отложений, гидрологические условия и наличие акцепторов электронов и питательных веществ для роста [17].

СТИМУЛЯЦИЯ ПРИРОДНОЙ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ

Существуют два принципиальных подхода к стимуляции биодegradации нефтяных УВ в природной среде: а) создание оптимальных условий для развития нефтеокисляющей микрофлоры (внесение азотно-фосфорных удобрений, известкование, аэрация и пр.); б) введение в загрязненную экосистему активных углеводородокисляющих микроорганизмов наряду с добавками солей азота и фосфора [10].

Биологические методы разрушения УВ используют в тех случаях, когда их количество мало, чтобы применять механические средства сбора, но, с другой стороны, слишком велико, чтобы использовать загрязненные земли и воду в хозяйственных целях. Возможность отказа от проведения специальных работ по санации загрязненных нефтепродуктами подземных вод была продемонстрирована на примере территории бывшей военной базы (аэродрома) в Чешской Республике, где экологические проблемы решались комплексно на основе сочетания технических решений и глубокого анализа процессов, происходящих

в природной среде [8]. Результаты мониторинга однозначно подтвердили протекание процесса самоочищения и деградации ареала загрязнения. Косвенным показателем этого процесса стали гидрохимические данные, свидетельствующие о расходовании акцепторов электронов и повышении содержания промежуточных продуктов микробного метаболизма. Авторы заключили, что анаэробная биodeградация была достаточно эффективным процессом, устраняющим ароматическую часть нефтяного загрязнения в подземных водах.

В почвах значительно больше возможностей для стимулирования природной нефтеокисляющей микрофлоры. Существенные успехи в этом направлении достигнуты в Германии, где была разработана инженерная технология санации загрязненных почв. В основу технологии положен принцип создания оптимальных условий для развития природного углеводородокисляющего микробиоценоза, включая внесение азотно-фосфорных удобрений, усиление аэрации и другие мероприятия. В процессе санации происходит селекция активных углеводородокисляющих бактерий, среди которых преобладают представители родов *Acinetobacter*, *Alcaligenes* и *Pseudomonas*.

Корпорация по защите окружающей среды "Environmental Protection Corporation" (США) разработала технологию по уничтожению жидких нефтяных отходов [7]. Стоки вывозят на большие грунтовые площадки, где они перемешиваются с верхним слоем почвы мощностью около 75 см. Нефть разрушается под действием бактерий. После обработки в течение определенного времени уплотненный материал, содержащий смесь почвы и остатков нефти, подвергается сушке. Весь цикл деградации при оптимальных условиях занимает 3 месяца. Каждое поле используется несколько раз в течение 3–5 лет. В 1984 г. объем обработанных стоков составил 2.5 млн баррелей.

Положительным качеством германской, американской и других технологий, направленных на стимуляцию природного процесса самоочищения, является также то, что они создают благоприятные условия для разрушения таких труднорастворимых УВ, как полиароматические УВ и циклопарафины. Эти соединения, как известно, лучше разлагаются комплексом микроорганизмов, чем чистой культурой, благодаря включению процессов соокисления и кометаболизма.

В России в начале 1990-х гг. были начаты исследования, касающиеся восстановления окружающей среды от нефтяного загрязнения. Специа-

листами ВНИГРИ и ВНИИСХМ, имеющими большой опыт работы в области нефтяной и сельскохозяйственной микробиологии, геохимии и анализа нефти, нефтепродуктов и органического вещества и, что особенно важно, практической интродукции бактерий в почву, был разработан способ очистки и технология рекультивации нефтезагрязненных почвенных экосистем [13]. На основе углеводородокисляющих бактерий создана серия биопрепаратов, в которой, в отличие от большинства биопрепаратов, применяемых в российской практике нефтеочистных работ, не предусматривается высушивание углеводородокисляющих бактерий. Природная активность микроорганизмов усилена специально подобранными органическими и минеральными добавками. Биопрепараты прошли лабораторные и полевые испытания и показали высокую эффективность утилизации нефтяного загрязнения

В процессе создания и испытания биопрепаратов накоплен большой фактический материал, позволяющий судить о дифференцированном воздействии выделенных штаммов при окислении нефти и нефтепродуктов, устойчивости к биodeградации отдельных компонентов нефти и балансовой стороне утилизации микроорганизмами нефтяного загрязнения почв [13]. Было установлено, что одни и те же компоненты нефти в зависимости от физиологических особенностей углеводородокисляющих бактерий подвергаются различной степени окисления. Как показали лабораторные исследования, испытанные штаммы углеводородокисляющих микроорганизмов в оптимальных вариантах опытов окисляли (в процентах от первоначального содержания) керосин на 95.5%, дизельное топливо на 76%, нефть на 40.6%, мазут на 36.4%. Составляющие нефти и нефтепродуктов окислялись в высокой степени: масла – на 70.6%, метановые и нафтеновые УВ – на 95.8%, ароматические УВ – на 87% и *n*-алканы на 99%

Исследование биodeградации УВ нефти плазмидосодержащими микроорганизмами-деструкторами проведено в работе [3]. Разработан микробный консорциум как основа биопрепарата для очистки окружающей среды от загрязнений нефтью и нефтепродуктами. Впервые продемонстрировано, что присутствие катаболических плазмид в штаммах-деструкторах увеличивает степень деградации нефти и способствует приросту биомассы плазмидосодержащих штаммов по сравнению с бесплазмидными бактериями. Как основа биопрепарата для биоремедиации почвенных и водных экосистем, загрязненных нефтью

и нефтепродуктами, создана микробная ассоциация, которая состоит из штаммов-деструкторов родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas* и *Acinetobacter*, содержащих катаболические плазмиды. Бактерии этого микробного консорциума способны к деградации УВ нефти при концентрации до 30% в температурном диапазоне 4–42 °С в присутствии 5% соли при рН от 4 до 10 [3].

Таким образом, активизация процессов природного самоочищения, в основе которого лежит деятельность углеводородокисляющих микроорганизмов, приводит к быстрому разрушению нефтяных УВ и экономически целесообразна.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Очистка от нефтяных углеводородов подповерхностной окружающей среды – реальная мировая проблема. Ключевую роль в самоочищении окружающей среды от нефтяного загрязнения играют биохимические процессы, протекающие с участием микроорганизмов, в присутствии которых происходит полный распад нефти до простых соединений, легко включающихся в общий круговорот веществ в водных экосистемах.

Интенсивность микробиологического разложения может существенно различаться в зависимости от типа нефти или нефтепродукта. Свежая нефть оказывает токсическое воздействие на микроорганизмы, пока не испарятся ее летучие компоненты. При благоприятных условиях практически все остающиеся соединения, вплоть до самых тяжелых фракций, подвергаются биодеструкции. Ее скорость быстро снижается в направлении *n*-алканы > олефины > низкомолекулярные ароматические УВ > изоалканы > циклоалканы > ПАУ > смолисто-асфальтеновые соединения. Скорости биodeградации алифатических, алициклических и ароматических УВ с молекулярным весом от низкого до умеренного могут быть высокими, если имеют место идеальные условия. Соппротивление биodeградации увеличивается с ростом молекулярного веса УВ.

Тяжелая нефть и мазуты, в больших количествах содержащие ПАУ, смолы и асфальтены, разрушаются значительно труднее, чем легкие нефти и нефтепродукты. Имеются сведения о бактериях, активно развивающихся на высокомолекулярных нефтяных компонентах. Кроме того, некоторые консервативные органические соединения, обычно не потребляющиеся микроорганизмами, могут включаться в процесс биоразложения в присутствии легкоокисляемых соединений,

служащих бактериям в качестве субстрата для роста и синтеза ферментов.

В процессе разложения нефтяных соединений выделяются продукты их неполного окисления (гидроперекиси, спирты, органические кислоты, альдегиды и др.), накопление которых может замедлить биодеструкцию. Однако образующиеся вещества, в свою очередь, часто являются пищей для других микроорганизмов. Поэтому окисление нефти в водных экосистемах осуществляется не каким-то отдельным видом или группами бактерий, а в результате деятельности всего микробиоценоза.

Необходимо отметить, что продукты разложения нефтяных углеводородов микроорганизмами – метаболиты – также могут быть опасными загрязнителями окружающей среды. В дальнейшем будут рассмотрены поведение и процессы трансформации метаболитов в подповерхностной окружающей среде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баландина А.В., Кузнецов Д.Б., Бурдова Л.В. Самовосстановление нефтезагрязненных почв // Успехи современного естествознания. 2014. № 4. С. 85–88.
2. Боровский Б.В., Закутин В.П., Палкин С.С., Палкин С.В. Обоснование возможности совместной эксплуатации Усольского месторождения питьевых подземных вод и нефтяных месторождений, расположенных на его границах // Разведка и охрана недр. 2010. № 10. С. 17–23.
3. Ветрова А.А. Биodeградация углеводородов нефти плазмидосодержащими микроорганизмами-деструкторами: автореф. дисс. канд. биол. наук / Биологический ф-т МГУ им. М.В. Ломоносова. М. 2010. 26 с.
4. Галицкая И.В., Позднякова И.А. К проблеме загрязнения подземных вод и пород зоны аэрации нефтепродуктами и ПАУ на городских территориях // Геоэкология. 2011. № 4. С. 337–343.
5. Динамика и прогноз загрязнения океанических вод. Т. 1. / Под ред. А.И. Симонова. Л.: Гидрометеоиздат, 1985. 145 с.
6. Израэль Ю.А., Цыбань А.З. Антропогенная экология океана. Л.: Гидрометеоиздат, 1989. 528 с.
7. Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 1996. Т. 32. № 6. С. 579–585.
8. Кржиж Л., Пашковский И.С. Нефтезагрязненные подземные воды: санация или самоочистка? // Экология производства. 2007. № 12. С. 50–53.

9. Ланге И.Ю. Инженерно-геологический анализ и оценка изменения несущей способности дисперсных грунтов при их контаминации нефтепродуктами: дисс. канд. геол.-мин. наук / Национальный минерально-сырьевой университет «Горный». СПб., 2016. 234 с.
10. Мязин В.А. Разработка способов повышения эффективности биоремедиации почв Кольского севера при загрязнении нефтепродуктами (в условиях модельного эксперимента): дисс. канд. биол. наук / Институт проблем промышленной экологии севера Кольского научного центра РАН. Апатиты, 2014. 159 с.
11. Острожная Е.Е. О загрязнении грунтовых вод Краснодарского края токсичными нефтепродуктами // Научный вестник Южного института менеджмента. 2015. № 2. С. 4–6.
12. Павлик Е.Д. Прогнозирование процессов деструкции нефтяных загрязнений в природной среде с использованием математических моделей: дисс. канд. техн. наук. Ростов-на-Дону, 1999. 193 с.
13. Rogozina E.A. Геохимические изменения в составе нефтей при биодegradации // Разведка и охрана недр. 2010. № 4. С. 63–68.
14. Розанова Е.П., Назина Т.Н. Углеводородокисляющие бактерии и их активность в нефтяных пластах // Микробиология. 1982. Т. 51. № 2. С. 342–348.
15. Фарахова И.З. Агрехимические свойства и приемы рекультивации нефтезагрязненных серых лесных почв Предкамья Республики Татарстан: автореф. дисс. канд. с/х. наук: 06.01.04. Казань, 2009. 25 с.
16. Хаустов А.П., Редина М.М. Трансформации нефтяных загрязнений геологической среды под влиянием живого вещества // Нефть. Газ. Новации. 2013. № 10. С. 22–30.
17. Bekins B.A., E.M. Godsy, E. Warren. Distribution of microbial physiologic types in an aquifer contaminated by crude oil // Microbial Ecology. 1999. V. 37. No. 4. P. 263–275.
18. Chikere C.B., Okpokwasili G.C., Chikere B.O. Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil // 3 Biotech. 2011. № 1. P. 117–138.
19. Cozzarelli I.M., Baedecker M.J., Eganhouse R.P., Goerlitz D.F. The geochemical evolution of low-molecular-weight organic acids derived from the degradation of petroleum contaminants in groundwater // Geochimica et Cosmochimica Acta. 1994. V. 58. № 2. P. 863–877.
20. Das N., Chandran P. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview // Biotechnology Research International. 2011. Article ID941810. 13 p.
21. Delin G.N., Essaid H.I., Cozzarelli I.M., Lahvis M.H., Bekins B.A. Ground water contamination by crude oil near Bemidji, Minnesota: U.S. Geological Survey Fact Sheet 084–98. USGS, 1998. URL: http://pstrust.org/docs/usgs_doc1.pdf (дата обращения 23.11.2017)
22. Eganhouse R.P., Baedecker M.J., Cozzarelli I.M., Aiken G.R., Thorn K.A., Dorsey T.F. 1993. Crude oil in a shallow sand and gravel aquifer – II. Organic geochemistry // Applied Geochemistry. 1993. V. 8. № 6. P. 551–567.
23. Essaid H.I., Bekins B.A., Herkelrath W.N., Delin G.N. Crude oil at the Bemidji site: 25 years of monitoring, modeling, and understanding // Ground Water. 2011. V. 49. № 5. P. 706–726.
24. Fingas M. Analysis of oil biodegradation products // Prince William Sound Regional Citizens' Advisory Council (PWSRCAC). Anchorage, Alaska, 2014. 11 p. URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/2e0d/6782c831b58790cb9e7edba7512dc6b89f2c.pdf> (дата обращения 23.11.2017)
25. Gieg L.M., Alumbaugh R.E., Field J., Jones J., Istok J.D., Suflita J.M. Assessing *in situ* rates of anaerobic hydrocarbon bioremediation // Microbial Biotechnology. 2009. V. 2. № 2. P. 222–233. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3815842/>. (дата обращения 23.11.2017)
26. Lewan M.D., Warden A., Dias R.F., Lowry Z.K., Hannah T.L., Lillis P.G., Kokaly R.F., Hoefen T.M., Swayze G.A., Mills C.T., Harris S.H., Plumlee G.S. Asphaltene content and composition as a measure of Deepwater Horizon oil spill losses within the first 80 days // Organic Geochemistry. 2014. V. 75. P. 54–60.
27. Rojo F. Degradation of alkanes by bacteria // Environmental Microbiology. 2009. V. 11. № 10. P. 2477–2490.
28. Steenson R., Hellmann-Blumberg U., Elias D., Brown K., Fry N., Naugle A., Meillier L., Prowell C. Petroleum Metabolites. Literature Review and Assessment Framework: Technical Resource Document / San Francisco Bay Regional Water Quality Control Board. 2016. 56 p. URL: http://www.waterboards.ca.gov/sanfranciscobay/publications_forms/documents/SF_WB_Petroleum_Metabolites.pdf (дата обращения 23.11.2017).
29. Williams S.D., Ladd D.E., Farmer J.J. Fate and transport of petroleum hydrocarbons in soil and ground water at Big South Fork National River and Recreation Area, Tennessee and Kentucky, 2002–2003: U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2005–5104. Reston, Virginia: USGS, 2006. 29 p. URL: <https://pubs.usgs.gov/sir/2005/5104/PDF/SIR20055104.pdf>. (дата обращения 23.11.2017)

REFERENCES

1. Balandina, A.V., Kuznetsov, D.B., Burdova, L.V. *Samovosstanovlenie neftezagryaznennykh pochv* [Self-restoration of oil polluted soils]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, 2014, no. 4, pp. 85–88. (in Russian).
2. Borevskii, B.V., Zakutin, V.P., Palkin, S.S., Palkin, S.V. *Obosnovanie vozmozhnosti sovместnoi ekspluatat-*

- sii Usol'skogo mestorozhdeniya pit'evykh podzemnykh vod i neftyanykh mestorozhdenii, raspolozhennykh na ego granitsakh* [Substantiation of the possibility of joint exploitation of the Usolsky deposit of drinking groundwater and oil fields located on its borders]. *Razvedka i okhrana neдр*, 2010, no. 10, pp. 17–23. (in Russian).
3. Vetrova, A.A. *Biodegradatsiya uglevodorodov nefiti plazmidosoderzhashchimi mikroorganizmami-destruktorami. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Biodegradation of petroleum hydrocarbons with plasmid-containing microorganisms-destructors. Author's abstract of cand. biol. sci. diss.] Moscow, Biological Faculty of Lomonosov Moscow State University, 2010, 26 p. (In Russian).
 4. Galitskaya, I.V., Pozdnyakova, I.A. *K probleme zagryazneniya podzemnykh vod i porod zony aeratsii nefteproduktami i PAU na gorodskikh territoriyakh* [Contamination of groundwater and unsaturated zone deposits with oil products and PAH in urban areas]. *Geoekologiya*, 2011, no. 4, pp. 337–343. (in Russian).
 5. *Dinamika i prognoz zagryazneniya okeanicheskikh vod. T. 1. Pod red. A.I. Simonova.* [Dynamics and forecast of ocean water pollution]. Vol. 1. Ed. A.I. Simonov. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1985, 145 p. (in Russian).
 6. Izrael', Yu.A., Tsyban', A.Z. *Antropogennaya ekologiya okeana* [Anthropogenic effects on the oceanic environment]. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1989, 528 p. (in Russian).
 7. Koronelli, T.V. *Printsipy i metody intensivifikatsii biologicheskogo razrusheniya uglevodorodov v okruzhayushchei srede (obzor)* [Principles and methods of intensification of biological destruction of hydrocarbons in the environment (review)]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1996, vol. 32, no. 6, pp. 579–585. (in Russian).
 8. Krzhizh, L., Pashkovskii, I.S. *Neftezagryaznennyye podzemnye vody: sanatsiya ili samoochistka?* [Oil contaminated groundwater: sanitation or self-purification?]. *Ekologiya proizvodstva*, 2007, no. 12, pp. 50–53. (in Russian).
 9. Lange, I. Yu. *Inzhenerno-geologicheskii analiz i otsenka izmeneniya nesushchei sposobnosti dispersnykh gruntov pri ikh kontaminatsii nefteproduktami. Diss. kand. geol.-min. nauk* [Engineering-geological analysis and assessment of the change in the bearing capacity of dispersed soils during their contamination with oil products. Cand. (geol.-min.) sci. diss.] St. Petersburg, St. Petersburg mining university, 2016, 234 p. (in Russian).
 10. Myazin, V.A. *Razrabotka sposobov povysheniya effektivnosti bioremediatsii pochv Kol'skogo severa pri zagryaznenii nefteproduktami (v usloviyakh model'nogo eksperimenta).* Diss. kand. biol. nauk [Development of methods for increasing the efficiency of bioremediation of soils of the Kola North during contamination with oil products (under the conditions of a model experiment). Cand. (biol.) sci. diss.] Apatity, Kola science centre RAS, 2014, 159 p. (in Russian).
 11. Ostrozhnaya, E.E. *O zagryaznenii gruntovykh vod Krasnodarskogo kraya toksichnyimi nefteproduktami* [On the contamination of groundwater in the Krasnodar krai by toxic petroleum products]. *Nauchnyi vestnik Yuzhnogo instituta menedzhmenta*, 2015, no. 2, pp. 4–6. (in Russian).
 12. Pavlik, E.D. *Prognozirovaniye protsessov destrukttsii neftyanykh zagryaznenii v prirodnoi srede s ispol'zovaniem matematicheskikh modelei. Diss. kand. tekhn. nauk* [Prediction of the processes of destruction of oil pollution in the natural environment using mathematical models]. Cand. eng. sci. diss.] Rostov-on-Don, 1999, 193 p. (in Russian).
 13. Rogozina, E.A. *Geokhimicheskie izmeneniya v sostave neftei pri biodegradatsii* [Geochemical changes in the composition of oils upon biodegradation]. *Razvedka i okhrana neдр*, 2010, no. 4, pp. 63–68. (in Russian).
 14. Rozanova, E.P., Nazina, T.N. *Uglevodorodokislyayushchie bakterii i ikh aktivnost' v neftyanykh plastakh* [Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their activity in oil reservoirs]. *Mikrobiologiya*, 1982, vol. 51, no. 2, pp. 342–348. (in Russian).
 15. Farakhova, I.Z. *Agrokhimicheskie svoystva i priemy rekul'tivatsii neftezagryaznennykh serykh lesnykh pochv Predkam'ya Respubliki Tatarstan. Avtoref. diss. kand. s/kh. nauk* [Agrochemical properties and methods of reclamation of oil-contaminated gray forest soils of the Prekamye of the Republic of Tatarstan. Author's abstract of cand. agr. sci. diss.] Kazan, 2009, 25 p. (in Russian).
 16. Khaustov, A.P., Redina, M.M. *Transformatsii neftyanykh zagryaznenii geologicheskoi sredy pod vliyaniem zhivogo veshchestva* [Transformation of oil contamination of the geological environment under the influence of living matter]. *Neft'. Gaz. Novatsii*, 2013, no. 10, pp. 22–30. (in Russian).
 17. Bekins, B.A., Godsy, E.M., Warren, E. Distribution of microbial physiologic types in an aquifer contaminated by crude oil. *Microb. Ecol.* 1999, 37, no. 4, pp. 263–275.
 18. Chikere, C.B., Okpokwasili, G.C., Chikere, B.O. Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil. *3 Biotech.* 2011, no. 1, pp. 117–138.
 19. Cozzarelli, I.M., Baedecker, M.J., Eganhouse, R.P., Goerlitz, D.F. The geochemical evolution of low-molecular-weight organic acids derived from the degradation of petroleum contaminants in groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1994, vol. 58, no. 2, pp. 863–877.
 20. Das, N., Chandran, P. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Bio-technol. Res. Int.*, 2011, Article ID941810. 13 p.
 21. Delin, G.N., Essaid, H.I., Cozzarelli, I.M., Lahvis, M.H., Bekins, B.A. *Ground water contamination by crude oil near Bemidji, Minnesota.* U.S. Geological Survey Fact Sheet 084–98. USGS, 1998. URL: http://pstrust.org/docs/usgs_doc1.pdf. (Accessed 23.11.2017)
 22. Eganhouse, R.P., Baedecker, M.J., Cozzarelli, I.M., Aiken, G.R., Thorn, K.A., Dorsey, T.F. Crude oil in a shallow sand and gravel aquifer – II. Organic geochemistry. *Appl. Geochem.* 1993, vol. 8, no. 6, pp. 551–567.

23. Essaid, H.I., Bekins, B.A., Herkelrath, W.N., Delin G.N. Crude oil at the Bemidji site: 25 years of monitoring, modeling, and understanding. *Ground Water*. 2011, vol. 49, no. 5, pp. 706–726.
24. Fingas, M. Analysis of oil biodegradation products. Prince William Sound Regional Citizens' Advisory Council (PWSRCAC). Anchorage, Alaska, 2014, 11 p. URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/2e0d/6782c831b58790cb9e7edba7512dc6b89f2c.pdf>. (Accessed 23.11.2017)
25. Gieg, L.M., Alumbaugh, R.E., Field, J., Jones, J., Istok, J.D., Suflita, J.M. Assessing *in situ* rates of anaerobic hydrocarbon bioremediation. *Microb. Biotechnol.*, 2009, vol. 2, no. 2, pp. 222–233. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3815842/>. (Accessed 23.11.2017)
26. Lewan, M.D., Warden, A., Dias, R.F., Lowry, Z.K., Hannah, T.L., Lillis, P.G., Kokaly, R.F., Hoefen, T.M., Swayze, G.A., Mills, C.T., Harris, S.H., Plumlee, G.S. Asphaltene content and composition as a measure of Deepwater Horizon oil spill losses within the first 80 days. *Org. Geochem.*, 2014, vol. 75, pp. 54–60.
27. Rojo, F. Degradation of alkanes by bacteria. *Environ. Microbiol.*, 2009, vol. 11, no. 10, pp. 2477–2490.
28. Steenson, R., Hellmann-Blumberg, U., Elias, D., Brown, K., Fry, N., Naugle, A., Meillier, L., Prowell C. Petroleum Metabolites. Literature Review and Assessment Framework: Technical Resource Document. San Francisco Bay Regional Water Quality Control Board. 2016, 56 p. URL: http://www.waterboards.ca.gov/sanfranciscobay/publications_forms/documents/SF_WB_Petroleum_Metabolites.pdf (Accessed 23.11.2017).
29. Williams, S.D., Ladd, D.E., Farmer, J.J. Fate and transport of petroleum hydrocarbons in soil and ground water at Big South Fork National River and Recreation Area, Tennessee and Kentucky, 2002–2003. U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2005–5104. Reston, Virginia, USGS, 2006, 29 p. URL: <https://pubs.usgs.gov/sir/2005/5104/PDF/SIR20055104.pdf>. (Accessed 23.11.2017)

PROCESSES OF BIOCHEMICAL DEGRADATION OF OIL HYDROCARBONS IN THE UNSATURATED ZONE AND GROUNDWATER

V.S. Putilina, I.V. Galitskaya, T.I. Yuganova

Sergeev Institute of Environmental Geoscience, Russian Academy of Sciences

Ulanskii per. 13, str. 2, Moscow, 101000 Russia.

E-mail: galgeoenv@mail.ru; vputilina@yandex.ru, tigryu@gmail.com

This article is an analytical review of the current literature on the problems of self-purification of the natural environment from oil hydrocarbons through microbial degradation. The stages of self-purification, the strains of microorganisms capable of decomposing oil hydrocarbons, mechanisms of decay and, as a result, the products of aerobic and anaerobic decomposition of oil hydrocarbons are discussed. The study of the composition of groundwater exposed to oil contamination showed that the biodegradation under anaerobic conditions is able to remove significant amounts of hydrocarbons from groundwater: anaerobic processes provided 60% of degraded total dissolved organic carbon, of these, 5% – by the reduction of Mn, 19% – Fe reduction and 36% – methanogenesis. Aerobic decomposition – 40% degraded organic carbon. The modeling results indicate that anaerobic processes provide more than half removal of the dissolved organic carbon at this site, which is consistent with geochemical estimates. Alkanes are resistant to chemical attack, but are easily enzymatically (microbially) oxidized. Cycloalkanes and aromatic hydrocarbons, in contrast, are more sensitive to chemical oxidation than to biological oxidation. Under favorable conditions, almost all compounds, down to the heaviest fractions are biodegradable. Its rate rapidly decreases the direction of *n*-alkanes > olefins > low molecular weight aromatic hydrocarbons > isoalkanes > cycloalkanes > PAHs > resinous-asphaltene compounds. Examples of stimulation of natural oil-degrading microflora are given.

Key words: *oil, oil hydrocarbons, biodegradation, strains of microorganisms, aerobic processes, anaerobic processes, change in oil properties.*