

Оптимизация очистки почвы и водных объектов от нефти с помощью биосорбентов

И. Б. АРЧЕГОВА, Ф. М. ХАБИБУЛЛИНА, А. А. ШУБАКОВ*

*Институт биологии Коми научного центра УрО РАН
167610, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28
E-mail: fluza@ib.komisc.ru*

* *Институт физиологии Коми научного центра УрО РАН
167982, Республика Коми, Сыктывкар
E-mail: shubakov@physiol.komisc.ru*

АННОТАЦИЯ

Получены нефтяные биосорбенты (патенты № 2299181, 2318736) с помощью иммобилизации в гидрофобный сорбент “Сорбонафт”, изготовленный по специальной технологии ЗАО “Пресс-торф”, нефтеокисляющих микроорганизмов. Для этого использованы две ассоциации аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов: грибная и бактериально-дрожжевая. Применение биосорбентов значительно ускорило процесс очистки от нефти. Убыль нефти в воде и почве в течение месяца составила в вариантах с препаратами 30–44 % против 5 % в контроле.

Ключевые слова: нефтезагрязнение, биосорбенты, ассоциации углеводородокисляющих микроорганизмов, активность дегидрогеназы.

Загрязнение нефтью и нефтепродуктами компонентов природной среды в районах добычи, транспорта, переработки нефти является серьезной экологической проблемой. Сложный состав нефти и продуктов ее переработки обусловливает определенные трудности при разработке приемов очистки почвы, водоемов (водотоков). На Севере, где со второй половины XX в. ведется интенсивная добыча нефти, газа, угля и других природных ресурсов, необходимо учитывать особенности природно-климатических условий, что требует специфических подходов при решении экологических проблем.

Для очистки нефтезагрязненных природных сред используют различного рода органоминеральные сорбенты, которые должны

легко собираться, быть безопасными, биодеградируемыми и легкоутилизируемыми. В частности, в качестве сорбентов нефти предложено использовать цеолиты – природные алюмосиликатные минералы, коммерческий биодеградируемый сорбент на основе полимера, мочевины и формальдегида [1–5].

Воздействие на нефтяные углеводороды (парафины, циклопарафины, ароматические соединения) химических и биологических агентов различно. Углеводородокисляющие микроорганизмы, к которым относятся представители многих родов бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов, от других членов гетеротрофного микробоценоза отличаются двумя особенностями: способностью к поглощению гидрофобных соединений и наличием

углеводородокисляющих ферментов. Парафины устойчивы к химическим воздействиям, но легко поддаются ферментативному окислению. Циклопарафины и ароматические углеводороды, напротив, более чувствительны к химическому окислению, чем к биологическому воздействию.

Существуют три основных направления биологической очистки почв: обработка почвы с внесением азотно-фосфорных удобрений, аэрации и проч. для обеспечения активизации собственной почвенной микрофлоры; биообработка в реакторах и биообработка *in situ*, основанная на внесении в почву биопрепаратов микроорганизмов-деструкторов нефти, нефтепродуктов наряду с азотными и фосфорными удобрениями [3–5].

Поскольку нефть (нефтепродукты) представляет собой смесь веществ, то эффективность очистки от нефтезагрязнения в значительной степени определяется выбранным способом деградации углеводородов. Экологически перспективными являются биологические приемы очистки почв, водных поверхностей, которые широко используются в настоящее время [4–6]. Эффективность использования биопрепаратов определяется физико-химическими и биологическими свойствами почв, включая ее гранулометрический состав, запас питательных веществ, величину pH и температурный режим, общую биологическую активность, а также биодоступность загрязняющих веществ [5].

Для извлечения из почв, водных объектов, болот тяжелых металлов используют биомассу бактерий, грибов или водорослей [8–10]. Для очистки нефтезагрязненных почв и вод в Московском регионе, в Восточной Сибири и в Республике Коми успешно применен биопрепарат “Родер”, состоящий из двух углеводородокисляющих бактерий – *Rhodococcus ruber* и *Rhodococcus erythropolis*, обнаруживающих при деградации нефти синергетическое действие [11, 12].

В последнее время рассматривается возможность комплексного использования биопрепарата в качестве биосорбента [5]. Главными преимуществами этой технологии являются высокая эффективность, минимизация химических или биологических загрязнений, возможность регенерировать биосор-

бенты. Для иммобилизации биомассы используют различные методы, которые можно разделить на три категории: иммобилизация клеток на инертных носителях, включение в полимерный матрикс и поперечная сшивка. Для крупномасштабного применения процессов биосорбции предпочтительно использовать именно иммобилизованную биомассу (биосорбенты) в отличие от нативной (биопрепаратов) [5]. Однако пока биосорбенты в основном используют для удаления таких поллютантов, как ионы металлов или красители.

В нашей статье рассматриваются результаты исследования по очистке почв и водотоков от нефтезагрязнения с помощью биологических приемов, основанных на применении разработанных авторами биосорбентов. В отличие от используемых микробных препаратов (биопрепаратов) разработанные нами биосорбенты (патенты РФ № 2299181 и 2318736 [13, 14]) сочетают сбор нефти и ее разрушение с помощью специально подобранных ассоциаций углеводородокисляющих микроорганизмов, внедренных в сорбент.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследовали эффективность двух типов биосорбентов (бактериально-дрожжевого и грибного) для очистки нефтезагрязненной почвы и водной поверхности.

Способ изготовления биосорбентов, наращивание биомассы углеводородокисляющих микроорганизмов (бактерии, дрожжи, мицелиальные грибы), а также приемы иммобилизации микроорганизмов в сорбент описаны в работе [15]. Носителем ассоциаций углеводородокисляющих микроорганизмов служил гидрофобный сорбент “Сорбонафт”, изготовленный по специально разработанной методике из природного растительного материала (торф) компанией “Пресс-торф” (г. Кирово-Чепецк Кировской обл.). Для иммобилизации углеводородокисляющих микроорганизмов на сорбент наносились в качестве питательной среды пивное сусло и ассоциации соответствующих микроорганизмов. Нарашивание их биомассы продолжалось в течение 10 дней.

Состав бактериально-дрожжевого сорбента включал два вида бактерий: *Arthrobacter* sp.,

Rhodococcus erythropolis и три вида дрожжей: *Pichia guillermondii* КБП-3205, *Candida lipolytica* КБП-3308, *Candida guillermondii* КБП-3175; грибной сорбент включал *Fusarium* sp., *Gliocladium deliquescens*, *Gliocladium* sp.

Опыт по испытанию эффективности биосорбентов для очистки загрязненной нефтью почвы проведен в подзоне средней тайги на экспериментальном участке Института биологии Коми НЦ УрО РАН. На опытные площадки (15 площадок 25 × 25 см) равномерно наносили по 50 мл нефти. В соответствии с вариантами опыта после пропитки почвы нефтью (слой 0–2 см) на площадки наносили по 50 г биосорбентов, тщательно перемешивали их с загрязненной массой почвенного слоя. Контролем служила нефтезагрязненная почва без биосорбентов. Повторность опыта трехкратная. С каждой площадки через определенные периоды времени отбирали для анализа образцы почвы из загрязненного слоя.

Содержание нефти в пробах почвы определяли весовым методом экстракцией нефтепродуктов гексаном из определенных на весах. Химические анализы почвы выполняли по общепринятым в почковедении методикам [16]. Количественное определение CO₂ проводили на хроматографе “Цвет-800” с соответствующим программным обеспечением по рекомендациям работы [17], активность дегидрогеназы – по работе [18]. Состав микроорганизмов в почве определяли по общепринятым методикам [19, 20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Опыт с применением биосорбентов проведен на нефтезагрязненной пахотной слабоокультуренной дерново-подзолистой почве.

Схема опыта включала варианты: 1 – контроль (без биосорбентов); 2 – сорбент “Сорбонафт” (без микроорганизмов); 3 – бактериально-дрожжевой биосорбент; 4 – грибной биосорбент. Исходный уровень нефтезагрязнения почвы 7,3 %. Продолжительность эксперимента 3 мес.

Одним из важных показателей деструкции углеводородов является уровень активности дегидрогеназы. Дегидрогеназа считается индикатором общей микробной активности, потому что встречается во всех живых клетках микроорганизмов и связана с процессами микробного дыхания.

В варианте с сорбентом без иммобилизации в нем углеводородокисляющих микроорганизмов (вариант 2, табл. 1) дегидрогеназа не обнаружена. В обоих вариантах с биосорбентами актуальная активность дегидрогеназы определяется уже в исходных образцах, причем она больше в бактериально-дрожжевом биосорбенте, чем в грибном. Лишь в конце опыта в обоих вариантах (3 и 4) величины АД_{акт} в обоих биосорбентах сравнялись.

Рассматривая динамику величины актуальной дегидрогеназной активности по вариантам, важно отметить, что первые 14 сут опыта характеризовались подавлением нефтью почвенной микробиоты, с чем связано отсутствие АД_{акт} в почве вариантов 1 и 2. Примерно через месяц на контроле стала появляться активность дегидрогеназы, существенно возрастающая в конце опыта. В варианте с сорбентом “Сорбонафт” более существенное увеличение АД_{акт}, чем в почве контроля, имело место через месяц, проявляясь равномерно до конца опыта. В почве вариантов 3 и 4 величина АД_{акт} через месяц стала возрастать, достигнув к концу опыта в 1,5–

Таблица 1
Актуальная активность дегидрогеназы (АД_{акт}) в почве опыта

| Вариант опыта | АД _{акт} , мкл H ₂ /г субстрата · ч по срокам отбора почвенных образцов, сут | | | | | |
|---------------------------------------|--|------|------|------|------|------|
| | исходная | 7 | 14 | 29 | 43 | 88 |
| 1 – контроль | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,06 | 0,09 | 0,26 |
| 2 – сорбент “Сорбонафт” | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,14 | 0,18 | 0,17 |
| 3 – бактериально-дрожжевой биосорбент | 0,12 | 0,13 | 0,13 | 0,14 | 0,27 | 0,40 |
| 4 – грибной биосорбент | 0,06 | 0,06 | 0,08 | 0,10 | 0,13 | 0,36 |

Т а б л и ц а 2

Дыхательная активность почвы (нмоль СО₂/ч на 1 г в. с. п.*) и общее количество микроорганизмов
(млн КОЕ/1 г в. с. п.)

| Вариант опыта | Исходная почва без нефти | Срок отбора почвенных образцов после загрязнения почвы, сут | | | |
|--|--------------------------------|---|----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 10 | 29 | 43 | 88 |
| 1 – контроль | 230,3 ** $4,48 \times 10^7$ | 144,0 1×10^7 | 375,6 — *** | 280,6 $1,12 \times 10^8$ | 424,5 $1,96 \times 10^8$ |
| 2 – сорбент “Сорбонафт” | 235,7 $1,37 \times 10^7$ | 215,4 $1,62 \times 10^7$ | 293,5 — | 273,5 $1,11 \times 10^8$ | 452,3 2×10^8 |
| 3 – бактериально-дрожжевой биосорбент | 223,2 $3,42 \times 10^7$ | 290,5 $1,6 \times 10^7$ | 339,1 — | 382,6 $1,42 \times 10^8$ | 505,5 $2,73 \times 10^8$ |
| 4 – грибной биосорбент | 219,3 $3,97 \times 10^7$ | 324,5 $3,86 \times 10^7$ | 491,2 — | 486,7 $2,05 \times 10^8$ | 473,2 $1,98 \times 10^8$ |

П р и м е ч а н и е. * воздушно-сухая почва; ** – в числителе – активность выделения СО₂, в знаменателе – общее количество микроорганизмов; *** – не определяли.

2 раза большей величины, чем в вариантах 1 и 2. Через 88 сут наблюдалось существенное увеличение ферментативной активности в вариантах 3 и 4.

В табл. 2 приведены результаты измерения активности выделения СО₂ (“дыхание почвы”), а также общее количество микроорганизмов. Видно, что загрязнение нефтью заметно воздействует на общую биологическую активность почвы.

В контролльном варианте отмечено снижение выделения СО₂ и общей численности микроорганизмов. В варианте 2 в начале опыта также наблюдалось снижение “дыхания почвы”, но меньшее, чем в контроле. В вариантах с внесением биосорбентов в начале опыта этого не отмечено. Во всех вариантах через месяц и до конца опыта наблюдается увеличение “дыхания почвы”, наиболее высокое в вариантах 3 и 4.

Как видно из табл. 1 и 2, внесение в нефтезагрязненную почву биосорбентов оказывает с самого начала опыта существенный положительный эффект.

Представляет интерес выявление изменения состава микробиоты в почве в течение опыта. В фоновой почве доминирует *Paecilotyces variotii* Bainier, среди часто встречающихся – *Mucor globosum* Fisher, *Umbelopsis rammiana* (Moller) Linnem, *Mortierella* sp., *M. isabellina* Oudem., *M. jenkini* Smith, *Mycelia sterilia* (c/o), *Chaetomium globosum* Kunze, *Ch. spirale* Zopf., *Ch. indicum* Corda., *Geomyces pannorum*

(Link) Sigler et Carmich, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) Vries, *Trichoderma hamatum* (Bon.) Bainier, *T. viride* Pers.:Fr.). Всего выделено 22 вида.

Обнаружено, что в составе микробиоты под воздействием нефти во всех вариантах заметно изменяется состав микромицетов. В контроле под влиянием нефти в начале опыта резко уменьшается число видов. Доминирует *P. tardum* Thom и темноокрашенный микромицет семейства Dematiaceae, представленный стерильным мицелием, а также сумчатый гриб *Chaetomium globosum*. В конце опыта наблюдается смена доминирующих и часто встречающихся видов, что связано с постепенным восстановлением микробиоты. Доминантом становится *Mycelia sterilia* (m/o), часто встречающимися – только пенициллы *Penicillium chrysogenum* Thom, *P. lanosum* Westling, *P. tardum* Thom, *P. funiculosum* Thom. В целом число видов несколько возросло по сравнению с началом опыта – сразу после внесения нефти.

В варианте 2 (с внесением в нефтезагрязненную почву сорбента “Сорбонафт”) в начале опыта доминируют *Mycelia sterilia* (m/o) и *P. tardum*. Число видов также резко снижается, как и в контроле. В конце опыта (через 88 дней) общее число видов стало больше, чем в контроле. Доминирует тот же вид, что и в контроле (*Mycelia sterilia* (m/o)), но более разнообразен состав часто и редко встречающихся видов.

Т а б л и ц а 3
Динамика содержания остаточной нефти (%) в почве

| Вариант опыта | Исходная концентрация нефти | Срок отбора почвенных образцов, сут | | | |
|---------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|------------|------------|-----------|
| | | 10 | 29 | 43 | 88 |
| 1 – контроль | 7,3 (100) | 5,5 (75,3) | 5,5 (75,3) | 3,8 (52,0) | 0,5 (6,8) |
| 2 – сорбент “Сорбонафт” | 7,3 (100) | 4,5 (61,6) | 3,8 (52,0) | 3,5 (47,9) | 0,3 (4,5) |
| 3 – бактериально-дрожжевой биосорбент | 7,3 (100) | 3,3 (44,5) | 2,3 (30,8) | 1,2 (16,3) | 0 (0) |
| 4 – грибной биосорбент | 7,3 (100) | 2,8 (37,7) | 2,2 (30,1) | 0,7 (9,5) | 0 (0) |

В вариантах с использованием биосорбентов (варианты 3 и 4) изменения в составе микробиоты в начале существенно менее выражены по сравнению с вариантами 1 и 2. В числе доминантов *Penicillium ochro-chloron* Biourge, *Raecilomyces variotii*, *Trichoderma hamatum*. Более многочислен состав часто встречающихся видов, особенно в варианте 4. В конце опыта в обоих вариантах (3 и 4) в составе доминантов определены *Mycelia sterilia* (темно- и светлоокрашенный) и *Raecilomyces variotii*. Существенно изменился состав часто встречающихся видов. В варианте с бактериально-дрожжевым сорбентом по сравнению с грибным количество видов микромицетов заметно ниже, что связано с разным составом ассоциаций иммобилизованных микроорганизмов. Так, в варианте 3 среди частых и редких выделено всего 8 видов микромицетов, тогда как в варианте с грибным сорбентом их было 12.

Приведенные данные показывают, что в контроле в составе часто встречающихся микромицетов все еще продолжают преобладать токсинобразующие микромицеты – *Penicillium funiculosum*, *P. lanosum*, *P. tardum*, тогда как в вариантах с использованием биосорбентов в составе микробиоты эти грибы отсутствуют. Таким образом, внесение биосорбентов оказывается более эффективным в экологическом плане при очистке почвы от нефтезагрязнений.

Рассмотренные показатели (дыхательная активность и общее количество микроорганизмов) хорошо согласуются с данными по активности дегидрогеназы, позволяя с большей определенностью судить об эффектив-

ности воздействия биосорбентов на деградацию нефти в почве.

Как видно из табл. 3, в почве контрольного варианта (вариант 1) только через 1,5 мес. существенно понизилось содержание нефти (около 50 % от начального уровня). Еще через 1,5 мес. остаточное загрязнение было около 7 %. Внесение сорбента без микроорганизмов (вариант 2) оказалось стимулирующее воздействие на биологическую активность – во все сроки наблюдения деградация нефти шла более активно, чем в контроле, но оставалась все же существенно ниже по сравнению с вариантами с биосорбентами.

Как и следовало ожидать, применение биосорбентов (варианты 3, 4) существенно ускорило деструкцию нефти в почве. Уже через 10 сут содержание остаточной нефти составило 38–44 % от внесенного количества. К концу эксперимента почва в вариантах 3 и 4 с использованием биосорбентов полностью очистилась от нефти.

Дерново-подзолистая почва, на которой проведен опыт, характеризуется невысоким содержанием основных элементов питания (табл. 4). В почве контрольного варианта через 10 сут, т. е. на начальном этапе опыта, содержание азота существенно понижается и остается низким до конца эксперимента, что отражает низкую биологическую активность, слабую деградацию нефти, усиливающуюся к концу опыта. Добавление сорбента “Сорбонафт” сопровождается усилением биологической активности, менее резким колебанием содержания азота, заметно понижающимся во второй половине опыта, когда усиливается деградация нефти. В вариантах с внесением

Таблица 4

Результаты химического анализа почвы

| Срок отбора почвенных образцов, сут | Вариант опыта | Содержание остаточной нефти в почве, % | Химические показатели почвы | | |
|-------------------------------------|---------------|--|-----------------------------|--------|-------|
| | | | Азот гидролизуемый | Фосфор | Калий |
| | | | мг/100 г в.с.п. | | |
| 0 (исходный образец) | 1 | 7,3 | 7,3 | 24,2 | 7,5 |
| | 2 | 7,3 | 6,7 | 17,8 | 10,5 |
| | 3 | 7,3 | 5,6 | 15,9 | 6,0 |
| | 4 | 7,3 | 6,7 | 16,7 | 10,5 |
| 10 | 1 | 5,5 | 4,5 | 16,7 | 12,8 |
| | 2 | 4,5 | 7,8 | 11,0 | 15,1 |
| | 3 | 3,3 | 7,8 | 13,2 | 10,5 |
| | 4 | 2,8 | 6,7 | 16,3 | 15,8 |
| 43 | 1 | 3,8 | 4,9 | 15,5 | 7,5 |
| | 2 | 3,5 | 6,7 | 11,7 | 9,0 |
| | 3 | 1,2 | 10,0 | 12,9 | 10,5 |
| | 4 | 0,7 | 6,2 | 16,3 | 11,3 |
| 88 | 1 | 0,5 | 5,6 | 11,6 | 4,3 |
| | 2 | 0,3 (4,5) | 4,5 | 8,9 | 3,8 |
| | 3 | 0 | 5,6 | 5,7 | 4,7 |
| | 4 | 0 | 5,0 | 7,4 | 5,1 |

биосорбентов (№ 3, 4) в первой половине эксперимента сохранялось более высокое содержание азота, особенно в варианте с бактериально-дрожжевым биосорбентом, убывая во второй части опыта на фоне увеличения биологической активности и полной деградации нефти. С низким содержанием в исходной почве легкодоступных элементов питания связанны и более низкие показатели дегидрогеназной (микробной) активности АД_{акт} и общей биологической активности почвы ("дыхание почвы" по выделению CO₂).

Таким образом, комплексное исследование показало эффективность использования биосорбентов для очистки нефтезагрязненных почв. Однако применение биосорбентов требует для ускорения процесса биодеградации

нефти внесения на бедных почвах минерального удобрения.

Разработанные биосорбенты также испытывали в лабораторном опыте на нефтезагрязненной водной поверхности.

В чашки (диаметром 19 см) на поверхность воды наливали 20 мл нефти и наносили биосорбенты. Биосорбент после 27 сут опыта с поверхности воды собирали, высушивали и проводили анализы. За небольшой период опыта в биосорбенте, остававшемся на поверхности воды, отмечено разрушение нефти на 12,5–16 % от начального уровня загрязнения, чему способствовало наличие основных элементов питания, обеспечивающих активную деятельность микроорганизмов в биосорбентах (табл. 5).

Таблица 5

Химические свойства биосорбентов после окончания опыта по микробиологической трансформации нефти

| Вариант опыта | Убыль нефти, % | Химические показатели биосорбентов | | | Осадок на дне, % от количества биосорбента |
|-----------------------------------|----------------|------------------------------------|--------------------|--------|--|
| | | pH | Азот гидролизуемый | Фосфор | |
| | | мг на 100 г в. с. п. | | | |
| Бактериально-дрожжевой биосорбент | 12,5 | 6,4 | 7,0 | 2,6 | 10,6 |
| Грибной биосорбент | 16,0 | 6,6 | 6,4 | 6,1 | 9,9 |
| | | | | | 4,1 |

Т а б л и ц а 6

Количество микроорганизмов в водной среде, тыс. КОЕ/1 мл воды

| Биосорбент | Среда МПА | Среда Чапека |
|-----------------------------------|---------------|--------------|
| Бактериально-дрожжевой биосорбент | 240 | 138 |
| Грибной биосорбент | 54 (бактерии) | 3/0* |

* В числителе – количество колоний грибов, в знаменателе – колоний дрожжей и бактерий.

Использованные ассоциации микроорганизмов характеризовались довольно высокой степенью закрепления в массе биосорбента. Об этом позволяет судить сравнительно невысокое количество микроорганизмов в воде под биосорбентом, особенно с грибной ассоциацией (табл. 6).

Отметим, что биосорбенты постепенно теряют гидрофобность, причем в большей мере с иммобилизацией бактериально-дрожжевой ассоциации. Осадок на дне сосуда биосорбента с этой ассоциацией микроорганизмов был заметно больше, чем с ассоциацией микромицетов. Опытные данные позволяют заключить, что при очистке загрязненных водных объектов биосорбенты следует удалять с поверхности через месяц, перенося их массу на специальные площадки, где она будет очищаться соответствующей ассоциацией микроорганизмов. Очищенный биосорбент может использоваться как органическое удобрение для газонов.

В условиях Севера короткий вегетационный период ограничивает время жизнедеятельности микроорганизмов-нефтедеструкторов. Необходимо также учитывать воздействие отрицательной температуры на активность микроорганизмов, закрепленных в сорбенте. Изучено влияние отрицательной температуры и высыпивания на жизнеспособность углеводородокисляющих иммобилизованных в сорбенте микроорганизмов. Испытывали два температурных режима: -10°C в течение 20 сут и $+18^{\circ}\text{C}$ в течение 30 сут.

После 20 сут промораживания образец биосорбентов выдерживали сутки до выравнивания с комнатной температурой и определяли количество микроорганизмов. При обоих температурных режимах численность микроорганизмов (табл. 7) и дыхательная активность не снижались, напротив, при обоих температурных режимах численность микроорганизмов, особенно после промораживания, резко возрастила.

Приведенные данные показывают, что в грибном сорбенте возрастание численности оказалось на порядок выше, что связано, по-видимому, с активным спорообразованием после перехода к положительным температурным условиям.

Замораживание – оттаивание биосорбентов не приводит к гибели микроорганизмов, что позволяет использовать биосорбенты до наступления заморозков с возобновлением их активности с начала положительных значений температуры весной.

Таким образом, применение биосорбентов является эффективным биотехнологическим приемом для очистки нефтезагрязненных почв и водных поверхностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Atlas R. M. Microbial hydrocarbon degradation –bioremediation of oil spills // J. Chem. Technol. Biotechnol. 1991. Vol. 52. P. 149–156.
2. Atlas R. M., Bartha R. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation // Adv. Microb. Ecol. 1992. Vol. 12. P. 287–338.

Т а б л и ц а 7

Количество микроорганизмов (млн КОЕ/г субстрата) в сорбенте с иммобилизованными микроорганизмами в условиях хранения при отрицательной и положительной температурах

| Биосорбент | Исходное | При -10°C через 20 сут | При $+18^{\circ}\text{C}$ через 30 сут |
|------------------------|---------------|--|--|
| Бактериально-дрожжевой | 1133 ± 54 | 1990 ± 84 | 1710 ± 78 |
| Грибной | 267 ± 17 | 2820 ± 69 | 1580 ± 67 |

3. Atlas R. M., Bartha R. Degradation and mineralization of petroleum in seawater: limitation by nitrogen and phosphorus // Biotech. Bioeng. 1972. Vol. 14. P. 309–318.
4. Mazeikiene A., Rimeika M., Valentukeviciene M., Oskinis V., Paskauskaite N., Brannvall E. Removal of petroleum products from water using natural sorbent zeolite // J. of Environmental Engineering and Landscape Management. 2005. Vol. XIII, N 4. P. 187–191.
5. Park D., Jun Y.-S., Park J. M. The past, present, and future trends of diosorption // Biotechnology and Bioprocess Engineering. 2010. Vol. 15., N 1. P. 86–102.
6. Margesin R., Schinner F. Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in soils // Applied and Environmental Microbiology. 1997. Vol. 63, N 7. P. 2660–2664.
7. Vidali M. Bioremediation, an overview // Pure Appl. Chem. 2001. Vol. 73, N 7. 1163–1172.
8. Parvathi K., Nagendran R., Nareshkumar R. Lead biosorption onto waste beer yeast by-product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry // Electronic J. of Biotechnology. 2007. Vol. 10, N 1. P. 92–105.
9. Treen-Sears M. E., Martin S. M., Volesky B. Propagation of *Rhizopus javanicus* biosorbent // Appl. Environ. Microbiol. 1984. Vol. 48, N 1. P. 137–141.
10. Marquez-Rocha F. J., Hernandez-Rodriguez V., Lamela M. T. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium // Water, Air, and Soil Pollution. 2001. Vol. 128. P. 313–320.
11. Murygina V., Arinbasarov M., Kalyuzhnyi S. Bioremediation of oil polluted aquatic systems and soils with novel preparation "Rhoder"// Biodegradation. 2000. Vol. 11. P. 385–389.
12. Murygina V. P., Markarova M. Y., Kalyuzhnyi S. V. Application of biopreparation "Rhoder" for remediation of oil polluted polar marshy wetlands in Komi Republic // Environment International. 2005. Vol. 31. P. 163–166.
13. Хабибуллина Ф. М., Арчегова И. Б., Ибатуллина И. З., Тулянкин Г. М., Таскаев А. И., Жучихин Ю. С., Козьминых А. Н. Биосорбент для очистки водной поверхности от нефти и нефтепродуктов // Патент на изобретение РФ № 2299181 от 20 мая 2007 г. (приоритет от 03.08.2005 г.), БИ № 14.
14. Хабибуллина Ф. М., Арчегова И. Б., Шубаков А. А. Тулянкин Г. М., Таскаев А. И., Жучихин Ю. С., Козьминых А. Н. Биосорбент для очистки водоемов от нефтепродуктов на основе штаммов бактерий и дрожжевых грибов // Патент на изобретение РФ № 2318736 от 10 марта 2008 г. (приоритет от 10.02.2006 г.), БИ № 7.
15. Тулянкин Г. М., Арчегова И. Б., Хабибуллина Ф. М., Гридин О. М., Шубаков А. А., Таскаев А. И., Терехова В. А., Жучихин Ю. С., Козьминых А. Н. Экологические основы оптимизированной технологии восстановления нефтезагрязненных природных объектов на Севере. Сыктывкар, 2007. 140 с.
16. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1970. 488 с.
17. Назаров С. К., Сивков М. Д. Методы измерения и расчета баланса углерода в естественных фитоценозах. Серия препринтов "Новые научные методики" Коми НЦ УрО РАН. 1992. Вып. 43. 16 с.
18. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
19. Егорова Л. Н. Почвенные грибы Дальнего Востока: Гифомицеты. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1986. 191 с.
20. Domsh K. H., Gams W., Anderson T.-H. Compendium of soil fungi. IHW-Verlag Eching, 2007. 672 p.

Optimization of the Purification of Soil and Water Objects from Oil with the Help of Biosorbents

I. B. ARCHEGOVA, F. M. KHABIBULLINA, A. A. SHUBAKOV*

Institute of Biology, Komi Scientific Center of UrB RAS
167610, Republic of Komi, Syktyvkar, Kommunisticheskaya str., 28
E-mail: fluza@ib.komisc.ru

* Institute of Physiology, Komi Scientific Center of UrB RAS
167982, Republic of Komi, Syktyvkar
E-mail: shubakov@physiol.komisc.ru

Oil biosorbents (patents № 2299181, 2318736) were obtained with the help of immobilization into hydrophobic sorbent "Sorbonaft" manufactured according to the special technology at the Press-Torf company, and oil-oxidizing microorganisms. Two associations of aboriginal hydrocarbon-oxidizing microorganisms were used for this purpose: fungal and bacterial-yeast. The application of biosorbents resulted in substantial acceleration of the process of purification from oil. A decrease in the amount of oil in water and in soil during one month was 30–44 % in versions with preparations against 5 % in the reference.

Key words: pollution with oil, biosorbents, associations of hydrocarbon-oxidizing microorganisms, activity of dehydrogenase.