

На правах рукописи

ИЛЬИНА ЕЛЕНА ГЕННАДЬЕВНА

**Разработка технологии биоочистки нефтяных и буровых
ОТХОДОВ**

03.00.23 – биотехнология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Уфа - 2002

Работа выполнена на кафедре биохимии и технологии микробиологических производств Уфимского государственного нефтяного технического университета

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

Доктор технических наук, профессор

**Ягафарова
Гузель Габдулловна**

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Доктор биологических наук, профессор

**Дубовик
Ирина Евгеньевна**

Доктор технических наук, старший научный сотрудник

**Миниغازимов
Наил Султанович**

Ведущая организация: ГУП «Институт нефтехимпереработки», г.Уфа

Защита состоится «22» ноября 2002 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.289.06 в Уфимском государственном нефтяном техническом университете по адресу: 450062, Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Уфимского государственного нефтяного технического университета.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные гербовой печатью, просим направлять по адресу: 450062, Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1, Ученому секретарю.

Автореферат разослан « » _____ 2002 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор технических наук, профессор

Н.А. Самойлов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Распространенными источниками загрязнения почвы и водоёмов нефтью и нефтепродуктами являются предприятия нефтедобычи, нефтепереработки, транспорта нефти и продуктов её переработки. Попадая в почву и водоёмы, нефть и нефтепродукты могут приводить к многочисленным экологическим катастрофам на значительных площадях. В регионах с развитой нефтедобывающей промышленностью к нефтяным загрязнениям добавляются токсичные буровые отходы.

Попадая в окружающую среду, нефть, нефтепродукты и буровые химреагенты отрицательно действуют на все звенья биологической цепи, приводят к нарушению естественных биологических и химических процессов. Обитатели экосистем, подвергаясь токсическому действию нефтепродуктов, способны аккумулировать их в своих тканях. Углеводороды могут затем по пищевым цепям передаваться в организм человека (например, канцерогенные полициклические компоненты нефти).

Наибольшую опасность для экосистемы представляют буровые и нефтяные отходы, которые накапливаются и хранятся, как правило, в земляных амбарах. Известные способы очистки и утилизации нефтяных и буровых отходов (особенно донных отложений нефтешламов) - механические, химические и физические – не всегда эффективны, а также часто экологически небезопасны. В связи с этим перспективным способом очистки нефтяных и буровых отходов от нефти, нефтепродуктов и химреагентов является использование комплекса мер, с обязательным включением биотехнологического метода.

Цель работы – разработать технологию биоочистки нефтяных (донные отложения) и буровых отходов путем использования биопрепарата «Родотрин», биодобавок и фитомелиорантов.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

- поиск продуцентов биоэмульгаторов углеводородов нефти из коллекционных нефтеокисляющих культур;
- оценка применения продуктов окисления керогена сланцев в качестве стимулятора роста и нефтеокисляющей активности бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д;
- подбор мелиорантов из растительных отходов (солома, остатки бобовых трав, опилки и гречишная шелуха) для интенсификации процесса биоочистки нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин»;
- разработка технологии биоочистки нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» путем аэрирования, послойного расположения нефтешлама и чернозема, применения фитомелиорантов;
- оценка биостойкости некоторых буровых добавок (крахмальных реагентов и КМЦ) относительно бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д;
- формирование математической модели, описывающей влияние температуры (от 10 до 40°C), pH (от 5 до 9), концентраций КМЦ (от 0,5 до 1,5% масс) и хлористого натрия (от 1 до 5% масс) на биомассу штамма *Rhodococcus*

erythropolis ВКМ АС-1339Д с целью повышения его активности деструктировать КМЦ.

Научная новизна работы. Впервые установлена способность культуры *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д продуцировать биоэмульгаторы углеводов нефти.

Доказана стимулирующая роль продуктов окисления керогена сланцев на рост и нефтеокисляющую активность бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д как в жидкой среде, так и в почве.

Показана возможность использования некоторых растительных отходов (остатки бобовых трав, солома, опилки и гречишная шелуха) в качестве мелиорантов для интенсификации процесса биоочистки нефтешлама (донные отложения шламонакопителей) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин».

Разработана технология биоочистки нефтешлама (донные отложения шламонакопителей) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» путем аэрирования, послойного расположения нефтешлама и чернозема, использования фитомелиорантов.

Впервые произведена оценка биостойкости некоторых полимерных буровых добавок: крахмальных реагентов (кукурузный крахмал, крахмал fito-R и Габроза ENV) и КМЦ (КМЦ-Selpol-SL, КМЦ-Selpol-RX и КМЦ-Финфикс) относительно бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д.

Проведено формирование математической модели, описывающей влияние температуры (от 10 до 40°C), pH (от 5 до 9), концентраций КМЦ (от 0,5 до 1,5% масс) и хлористого натрия (от 1 до 5% масс) на биомассу бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д с целью повышения его активности деструктировать КМЦ.

Практическая значимость. Результаты проведенных исследований явились основой для разработки технологии биоочистки нефтешламов (донные отложения шламонакопителей) путем использования биопрепарата «Родотрин», биодобавок, фитомелиорантов, системы аэрирования, послойного расположения нефтешлама и чернозема. Разработанная технология может быть использована при проведении рекультивационных мероприятий в нефтегазодобывающей и нефтегазоперерабатывающей отраслях промышленности.

Проведены промышленные испытания по ликвидации нефтяных загрязнений в овраге в районе факелов высокого давления зоны №2 на территории ОАО «Новоуфимский нефтеперерабатывающий завод» (Башкортостан) с помощью биопрепарата «Родотрин» и фитомелиорантов.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы были представлены на научной конференции по производству и применению материалов и химических реагентов «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии» «РЕАКТИВ-1999», 1999; на V Международной конференции по интенсификации нефтехимических процессов «Нефтехимия - 99», Нижнекамск, 1999; на 2-ом Международном симпозиуме «Наука и технология углеводородных систем», Уфа, 2000; на 2-ом Всероссийской научно-практической конференции «Отходы 2000», Уфа, 2000; на 55-й Юбилейной межвузовской студенческой научной конференции РГУ нефти и газа имени

И.М.Губкина «НЕФТЬ И ГАЗ – 2001», Москва, 2001; на III Конгрессе Нефтепромышленников России «Нефтепереработка и нефтехимия», Уфа, 2001; на Школе-семинаре «Химическая экология», Уфа, 2001; на 50, 51, 52-й научно-технических конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых УГНТУ, Уфа, 2000 – 2002 гг.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ, в том числе получен 1 патент РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 185 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, методики, экспериментальной части, обсуждения результатов исследования, выводов, списка литературы и приложений, включает 39 таблиц, 18 рисунков, 2 фотографии. Список литературы включает 180 литературных источников, в том числе иностранных – 24.

Аналитический обзор литературы. В обзоре произведен анализ влияния нефти, нефтепродуктов и буровых добавок на почву и водную среду. Рассмотрены микроорганизмы, биопрепараты, а также способы рекультивации, предлагаемые для очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов. Рассмотрены способы интенсификации биоочистки почвы от нефти и нефтепродуктов путем применения минеральных и органических мелиорантов, путем подбора и высева фитомелиорантов. В обзоре также приведены сведения о микроорганизмах – продуцентах биоПАВ, о типах биоПАВ, об отраслях их применения, в частности об актуальности использования биоПАВ при ликвидации загрязнения окружающей среды нефтью и нефтепродуктами.

Материалы и методы исследований. В исследованиях использовался нефтешлам (донные отложения), отобранный из шламонакопителя зоны №2 ОАО «Башнефтехим» (содержание нефти и нефтепродуктов в нефтешламе составляло 11,0% масс.). В экспериментах также применялись чернозем типичный и речной песок.

При проведении экспериментов применяли микробиологические методы исследований: определение количества клеток чашечным методом Коха; определение микробной биомассы в жидкой минеральной среде с помощью мембранных фильтров; определение количества нитрифицирующих бактерий и аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов общепринятыми методами путем высева на соответствующие среды (среда Виноградского и Гетчинсона).

Определение фитотоксической активности ВМК и продуктов их разложения, фитотоксической активности продуктов микробиологической деградации углеводов нефти проводили на проростках семян овса, кукурузы (гибрид трехлетний (линия МКР 33 1 СХ х линия F₂ С) Х линия 1866/82 СВ), донника белого (*Metilotus albus*), костра острого (*Bromus squarrosus*), сорго суданского (*Sorghum sudanense*), люцерны кормовой (*Medicago sativa*), люпина белого (*Lupinus albus*) и эспарцета кормового (*Onobrychis sativa*).

Лабораторно-аналитические исследования образцов почвогрунтов проводили в соответствии с общепринятыми в почвоведении методами.

Углеводороды нефти в почве и жидкой среде определяли спектрофотометрическим и газохроматографическим методами.

Количество крахмала определяли титрометрическим методом с помощью раствора Фелинга. Устойчивость КМЦ к деструкции оценивали по изменению удельной вязкости с помощью вискозиметра.

Проведена статистическая обработка результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1 Поиск продуцентов биоэмульгаторов углеводородов нефти из коллекционных нефтеокисляющих культур

Известно, что биодоступность плохо растворимых органических загрязнителей типа нефти и нефтепродуктов можно увеличить за счет использования ПАВ, либо внесенных в место загрязнения, либо продуцированных микроорганизмами *in situ*. В связи с этим весьма актуальным является поиск микроорганизмов–продуцентов биоПАВ. Нами была поставлена задача выявить продуценты биоПАВ среди коллекционных нефтеокисляющих культур *Bacillus subtilis 1742D*, *Pseudomonas putida 1301* и *Rhodococcus erythropolis AC-1339D*.

В результате проведенных исследований было выявлено, что только при выращивании штамма *Rh. erythropolis AC-1339D* на этаноле, гексадекане и нефти наблюдалось снижение поверхностного натяжения культуральной жидкости и проявление эмульгирующей активности.

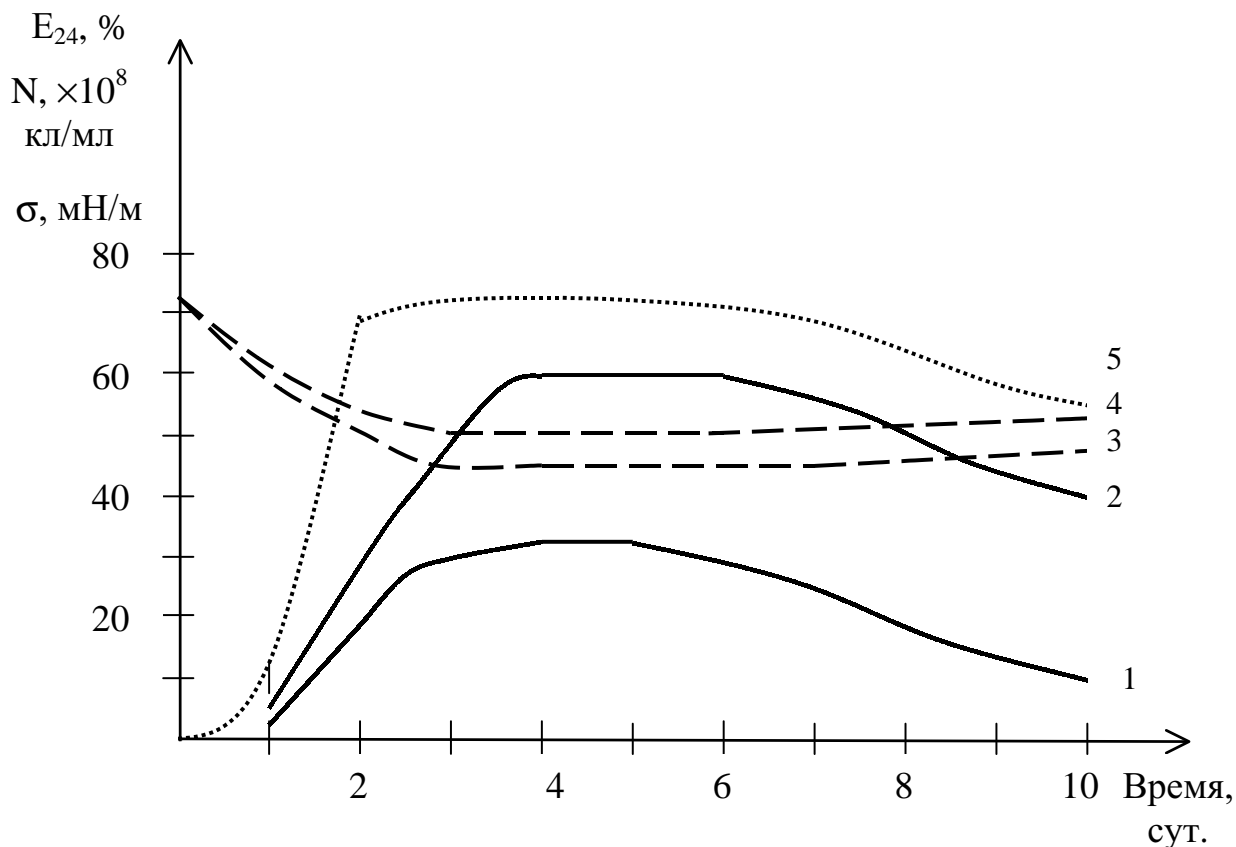
При этом оптимальным источником углерода для синтеза биоПАВ оказалась нефть: при росте штамма на этом субстрате поверхностное натяжение снижалось до 43,1 мН/м, эмульгирующая активность по отношению к керосину составляла 59%, в то время как при росте на гексадекане значения поверхностного натяжения и эмульгирующей активности составили 50,9 мН/м и 40,0%, а на этаноле - 65,5 мН/м и 11,0% соответственно.

Эмульгирующая активность культуральной жидкости (супернатанта) при культивировании штамма *Rh. erythropolis* на минеральной среде с нефтью (1% масс.) зависела от времени отбора (рисунок 1). Величина E_{24} культуральной жидкости достигала максимума (59,0%) на 4 сут. При этом биоПАВ являлись частично внеклеточными, так как эмульгирующую активность и снижение поверхностного натяжения проявляла не только культуральная жидкость бактерий *Rh. erythropolis*, но и ее супернатант.

В процессе культивирования поверхностное натяжение σ культуральной жидкости и её супернатанта резко понижалось уже на 1-е сут. и достигало минимума на 3-и сут. Затем наблюдался период неизменности σ (рисунок 1).

При определении эмульгирующей способности культуральной жидкости и её супернатанта было отмечено явление обращения фаз эмульсии, образованной культуральной жидкостью (супернатантом) и керосином. Так, в течение 8 сут. наиболее устойчивой эмульсией являлась вода/керосин, в то время как эмульсия керосин/вода разрушалась за несколько минут. Только на 9 и 10 сут. происходило образование устойчивой эмульсии керосин/вода без заметного образования обратной эмульсии.

Качественный анализ образуемых биоПАВ с помощью известного метода, основанного на использовании красителя метиленового голубого, позволил выявить, что на 3, 4, 5 и 6 сут. в среде, вероятно, преобладали катионноактивные ПАВ, а на 9 и 10 сут. – анионноактивные ПАВ.



1 - эмульгирующая активность (E_{24}) супернатанта, 2 - эмульгирующая активность (E_{24}) культуральной жидкости, 3 - поверхностное натяжение (σ) культуральной жидкости, 4 - количество клеток (N), 5 - поверхностное натяжение (σ) супернатанта

Рисунок 1 - Изменение параметров культуральной жидкости и её супернатанта при росте штамма *Rh. erythropolis* AC-1339Д на минеральной среде с нефтью (1% масс.)

Культуральная жидкость бактерий *Rh. erythropolis* проявляла способность эмульгировать различные углеводородные субстраты. При этом наибольшую эмульгирующую активность культуральная жидкость *Rh. erythropolis* проявляла по отношению к нефти (64%), затем к керосину (59%) и гексадекану (56%).

Изучение влияния температуры и продолжительности прогревания на эмульгирующую способность супернатанта культуральной жидкости показало, что синтезируемое штаммом *Rh. erythropolis* биоПАВ термостабильно: эмульгирующая способность биоПАВ при выдерживании в течение 25 мин при температуре 100°C снижалась не более, чем на 20% (с 32% при 0 мин до 26% при 25 мин).

На основе штамма *Rh. erythropolis* AC-1339Д создан эффективный нефтеокисляющий биопрепарат «Родотрин» (Ягафарова, Скворцова). Известно, что эмульгирование нефти и нефтепродуктов в среде интенсифицирует их биодegradацию. Для этого в среду, загрязненную нефтью и нефтепродуктами, вносят или ПАВ, или микроорганизмы, продуцирующие ПАВ *in situ*. Поэтому способность данного штамма *Rh. erythropolis* AC-1339Д к адгезии на углеводородный субстрат и его способность продуцировать частично внеклеточные эмульгаторы углеводородов нефти являются несомненным преимуществом биопрепарата

«Родотрин». Эти свойства штамма *Rh. erythropolis AC-1339D* позволяют достигнуть высоких результатов очистки среды от нефти и нефтепродуктов без внесения каких-либо дополнительных нефтеэмульгаторов.

2 Изучение влияния продуктов окисления керогена сланцев на рост и нефтеокисляющую активность бактерий *Rh. erythropolis AC-1339D* в почве и воде

Одним из перспективных направлений интенсификации биodeградации нефти и нефтепродуктов в почве и водной среде является применение ПАВ, которые одновременно выполняют роль стимуляторов роста углеводородоокисляющих бактерий.

Исходя из качественного состава продуктов окисления керогена сланцев в водно-щелочной среде – наличия высокомолекулярных кислот (ВМК) и двухосновных кислот, особенно янтарной кислоты - интермедиата цикла трикарбоновых кислот, и особенностей клеточного метаболизма родококков было сделано предположение, что данное вещество должно проявлять активирующие свойства. Расчет удельной скорости роста клеточной культуры родококков показал, что внесение продуктов окисления керогена сланцев от 0,001 до 0,003% масс. в водную среду с нефтью способствовало более интенсивному приросту численности родококков. Таким образом, продукты окисления керогена сланцев являлись активаторами роста родококков на углеводородах нефти в водной среде. Далее было установлено, что внесение в нефтезагрязненную среду продуктов окисления керогена сланцев интенсифицировало не только рост, но и нефтеокисляющую активность родококков как в водной среде, так и в почве. Так, внесение продуктов окисления керогена сланцев в количестве 0,002% масс. в почву, загрязненную нефтью (1% масс.), способствовало повышению эффекта биоочистки почвы от нефти бактериями *Rh. erythropolis* в среднем на 12% через 40 сут. культивирования (таблица 1). Степень биodeградации нефти (1,0% масс.) в водной среде через 1 сут. культивирования была больше на 19,0 – 40,9% при добавлении продуктов окисления керогена сланцев, чем в их отсутствии (таблица 2).

Таблица 1 - Влияние ВМК (0,002%) на биodeградацию нефти в почве бактериями *Rh. erythropolis AC-1339D*

Вариант	Содержание нефти в почве, %		Степень биodeградации, %
	0 сут.	40 сут.	
Чернозем + нефть	1,00	0,95±0,02	5,0
Чернозем + нефть + бактерии	1,00	0,25±0,06	75,0
Чернозем + нефть + бактерии + ВМК (0,002%)	1,00	0,13±0,04	87,0

Вероятно, интенсификация процесса биodeградации нефти родококками являлась суммарным эффектом, обусловленным интенсификацией процессов биodeградации отдельных нефтяных фракций. Например, в результате исследований было выявлено, что продукты окисления керогена сланцев ускоряли биodeградацию легкой фракции нефти – гексадекана: после 72 ч культивирования

Rh. erythropolis в среде с ВМК (0,002% масс.) биодegradация гексадекана была выше, чем в контрольной среде без ВМК, на 19%.

При этом достаточное внесение продуктов окисления керогена сланцев в количестве 0,002% - процесс биодegradации нефти и нефтепродуктов бактериями *Rh. erythropolis* интенсифицируется на 20 - 40% за 1-3 сут.

Наибольшее влияние продукты окисления керогена сланцев оказывали на рост и нефтеокисляющую активность родококков в начале культивирования. Если степень биодegradации нефти (1,0%) при внесении 0,001, 0,002 и 0,003% ВМК на 1 сут. культивирования была на 19,0, 40,0 и 40,9% выше степени биодegradации без ВМК, то на 2 сут. только на 3,2, 12,0 и 18,8%, на 3 сут. на 3,1, 11,0 и 13,2% соответственно. Аналогичные результаты наблюдались для начальных концентраций нефти 0,25, 0,4 и 0,5% (таблица 2).

Таблица 2 - Влияние ВМК на биодegradацию нефти бактериями *Rh. erythropolis* АС-1339Д

Концентрация нефти	Время, сут.	Степень биодegradации нефти, %			
		Концентрация ВМК 0,000%	Концентрация ВМК 0,001%	Концентрация ВМК 0,002%	Концентрация ВМК 0,003%
0,25%	1	19,0±0,1	20,3±0,1	20,6±0,2	22,0±0,1
	2	30,9±0,1	35,2±0,2	35,9±0,1	40,0±0,3
	3	65,1±0,2	68,2±0,1	68,0±0,4	70,3±0,1
	4	71,0±0,1	73,0±0,4	73,4±0,4	75,4±0,1
0,4%	1	20,0±0,2	24,1±0,1	27,0±0,1	33,4±0,3
	2	41,0±0,5	47,5±0,2	51,0±0,3	60,0±0,1
	3	69,1±0,3	70,2±0,3	75,2±0,1	78,0±0,3
	4	74,0±0,2	75,0±0,1	79,8±0,2	82,5±0,2
0,5%	1	25,7±0,2	30,0±0,2	39,9±0,2	42,2±0,1
	2	40,0±0,3	49,1±0,1	56,6±0,1	58,3±0,1
	3	71,6±0,2	74,0±0,1	78,8±0,3	81,5±0,3
	4	76,5±0,3	77,4±0,1	82,6±0,3	90,0±0,3
1,0%	1	30,0±0,1	39,1±0,1	50,0±0,1	50,9±0,1
	2	70,2±0,1	73,4±0,2	82,2±0,1	88,4±0,3
	3	78,0±0,2	81,1±0,1	89,0±0,1	91,2±0,4
	4	83,9±0,1	87,9±0,4	94,7±0,1	96,5±0,3

Важным показателем любого вещества, используемого для интенсификации биоочистки нефтезагрязненных сред, является фитотоксичность самого вещества и продуктов его разложения. В экспериментах была изучена фитотоксичность ВМК и продуктов окисления по отношению к семенам кукурузы (гибрид трехлетний (линия МКР 33 1 СХ х линия F 2₂ С) Х линия 1866/82 СВ). На фитотоксичность были проверены 0,03%-ный раствор ВМК на дистиллированной воде и культуральная жидкость, полученная путем отделения клеток родо-

кокков после 5 сут. культивирования на 0,03%-ном растворе ВМК. Фитотоксичность оценивалась по всхожести семян и длине корешков кукурузы. Контролем служил опыт проращивания семян кукурузы на дистиллированной воде. Нами было установлено, что ВМК и продукты его окисления не фитотоксичны, так как они не оказывали негативного влияния на семена кукурузы. При этом 0,03%-ный раствор ВМК проявлял активирующие свойства на семена кукурузы (рисунок 2).

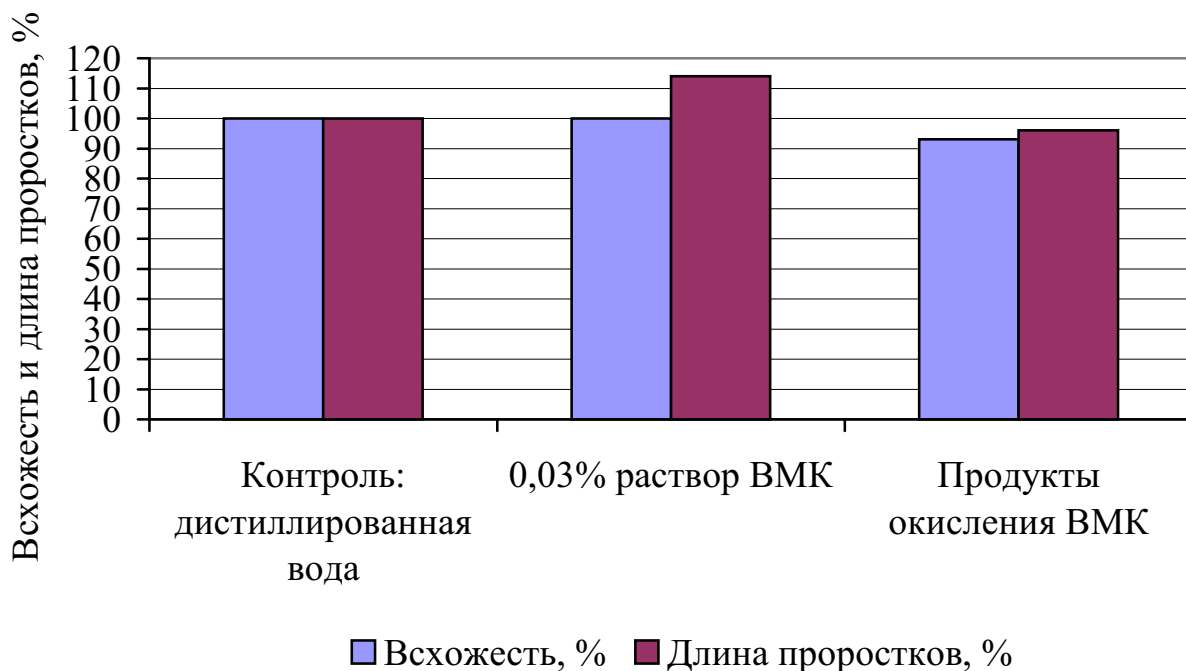


Рисунок 2 - Влияние ВМК и продуктов его окисления на всхожесть и число проростков кукурузы

Таким образом, применение ВМК, получаемых при неполном окислении керогена сланцев в водно-щелочной среде, в концентрациях 0,001 – 0,003% масс. позволяет повысить степень очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов и может найти широкое применение в составе биопрепаратов для ликвидации нефтяных загрязнений в нефтегазодобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности.

3 Оценка влияния мелиорантов (солома, остатки бобовых трав, опилки и гречишная шелуха) и чернозема на очистку нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин»

Использование компостов на основе растительных материалов значительно ускоряет процесс очистки нефтезагрязненных почвогрунтов при несложной методике обработки, поэтому подбор мелиорантов для стимуляции нефтеокисляющих биопрепаратов является актуальным для создания дешевых, надежных и эффективных технологий биоочистки нефтезагрязненных земель.

При подборе мелиорантов из таких растительных отходов, как солома, остатки бобовых трав, опилки и гречишная шелуха, нами было установлено, что внесение всех этих мелиорантов увеличивало степень биоочистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин». Данные мелиоранты по увеличению степени очистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» можно расположить в следующем порядке: гре-

чишная шелуха < солома < опилки < остатки бобовых трав. Остатки бобовых трав в большей степени увеличивали биodeградацию нефти и нефтепродуктов родококками – на 29,8% через 90 сут. культивирования, тогда как опилки – только на 20,3%, солома – на 15,9%, гречишная шелуха – на 4,9% относительно контроля с «Родотрином» и без мелиоранта (рисунок 3).

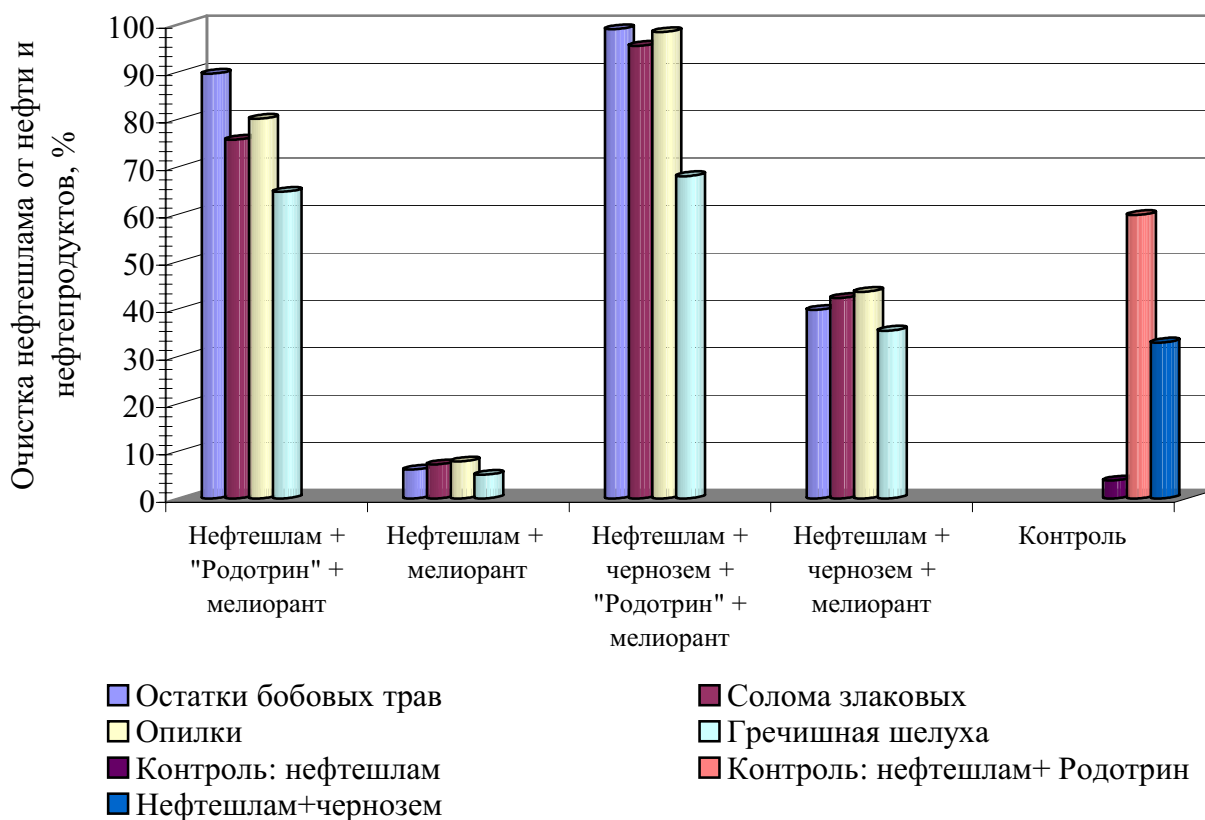


Рисунок 3 - Влияние мелиорантов и чернозема на очистку нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин»

В дальнейших исследованиях изучалось совместное влияние мелиорантов и чернозема на очистку нефтешлама от нефти и нефтепродуктов с помощью биопрепарата «Родотрин». Применение биопрепарата «Родотрин», чернозема и мелиорантов (соломы, остатков бобовых трав, опилок и гречишной шелухи) позволяло очистить нефтешлам от нефти и нефтепродуктов на 70,0 - 99,8% за 90 сут. Дополнительное внесение чернозема в нефтешлам, обработанный «Родотрином» и содержащий мелиоранты, увеличивало степень биodeградации нефти и нефтепродуктов на 5,3-10,2% в зависимости от типа мелиоранта. Например, степень биodeградации нефти и нефтепродуктов биопрепаратом "Родотрин" составила при внесении чернозема и остатков бобовых трав 99,8%, при внесении чернозема и соломы – 97,0%, при внесении чернозема и опилок – 98,3%, при внесении чернозема и гречишной шелухи – 70,0% за 90 сут. культивирования (рисунок 3).

При внесении чернозема наблюдалось развитие целлюлозоразрушающих микроорганизмов даже в начале культивирования ($1,0 - 1,3 \times 10^3$ кл/г почвы), в то время как в опыте с «Родотрином» и мелиорантом без чернозема подобного не происходило. При дальнейшем культивировании наибольший прирост целлюлозоразрушающих микроорганизмов отмечался при использовании в качест-

ве мелиоранта остатков бобовых трав. Проверка на фитотоксичность нефтешлама после его очистки с помощью «Родотрина», мелиорантов и чернозема показала, что нефтешлам после очистки сохранял токсичность по сравнению с чистой почвой.

Таким образом, показана возможность интенсификации биоочистки нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» за счет использования таких растительных отходов, как остатки бобовых трав, солома, опилки и гречишная шелуха, в количестве 1 часть на 10 частей нефтешлама (по массе), а также внесения чернозема в количестве 1 часть на 2 части нефтешлама (по массе). Совместное применение биопрепарата «Родотрин», чернозема и мелиорантов (солома, остатки бобовых трав, опилки и гречишная шелуха) позволяет очистить нефтешлам от нефти и нефтепродуктов на 70,0 - 99,8% за 90 сут. и снизить его фитотоксичность.

4 Технология биоочистки нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» путем аэрирования, послойного расположения нефтешлама и чернозема, использования фитомелиорантов

Разработана технология биоочистки нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» путем аэрирования, послойного расположения нефтешлама и чернозема, применения фитомелиорантов (для условий республики Башкортостан). При этом рекомендуется:

- обработка непосредственно нефтешлама биопрепаратом «Родотрин», внесение совместно с биопрепаратом биостимуляторов (продукты окисления керогена сланцев – 0,002% масс., биотрин – 0,05% масс. и диаммофос – 0,03% масс.), внесение опилок (1 часть на 10 частей нефтешлама по массе);

- послойное расположение нефтешлама, чернозема и песка в локальных установках (рисунок 4); применение системы аэрирования в виде перфорированных труб; регулярное проведение агрохимических приемов (полив, рыхление без перемешивания слоев);

- внесение через 6 мес. биодобавок: биотрина (0,05% масс.) и диаммофоса (0,03% масс);

- посев смеси костра острого и сорго суданского из расчета 3,0 г/м² через 12 мес. биоочистки нефтешлама.

Объектом очистки служил нефтешлам (донные отложения), отобранный в начале апреля из шламонакопителя зоны №2 ОАО «Башнефтехим». Содержание нефти и нефтепродуктов в нефтешламе составляло 11,0% масс.



Рисунок 4 – Схема модельной установки

В качестве контрольных вариантов по схеме (рисунок 4) были заложены: опыт без аэрации и внесения биопрепарата «Родотрин» и опыт без аэрации с применением биопрепарата «Родотрин», биодобавок и опилок.

Эксперимент проводился при температуре 22 - 24°C.

Отбор проб осуществляли из верхнего и нижнего слоев нефтешлама каждые 30 сут. до конца исследований (540 сут.). В опытах изучали динамику биодеградации углеводородов нефти, определяли ферментативную активность почвы (каталазную, дегидрогеназную и инвертазную), а также изменение количества аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов, гетеротрофных и нитрифицирующих бактерий.

Исследования показали, что обработка слоев нефтешлама биопрепаратом «Родотрин», внесение биодобавок (продуктов окисления керогена сланцев, биотрина, диаммофоса) и опилок значительно интенсифицировала процесс биодеградации нефти и нефтепродуктов. Например, на 360 сут. степень биодеградации нефти и нефтепродуктов в верхнем слое нефтешлама составила 87,0% для опыта с «Родотрином» без системы аэрирования и 91,0% для опыта с «Родотрином» и системой аэрирования, что на 67,0 и 71,0% соответственно больше, чем в контроле. В нижнем слое нефтешлама степень биодеградации нефти и нефтепродуктов составила при применении «Родотрина» 56,6%, а при применении «Родотрина» и системы аэрирования – 87,0%, что на 42,2 и 72,6% соответственно больше контроля (рисунок 5).

На процесс биоочистки нефтешлама от нефтезагрязнений также положительно влияло введение системы аэрирования. При этом позитивное действие введения системы аэрирования проявлялось наиболее заметно для нижнего слоя нефтешлама. Например, в нижнем слое нефтешлама степень биодеградации нефти и нефтепродуктов в опыте с «Родотрином» и системой аэрирования составила 53,7% за 180 сут., что больше на 35,7%, чем в опыте с «Родотрином» без системы аэрирования, и на 44,6%, чем в контроле (рисунок 5). При этом даже при введении системы аэрирования биодеградация нефти и нефтепродуктов в нижнем слое нефтешлама происходила менее интенсивно, чем в верхнем. Например, в опыте с «Родотрином» и системой аэрации степень биодеградации нефти и нефтепродуктов составляла 76,0% для верхнего и 53,7% для нижнего слоя нефтешлама на 180 сут.

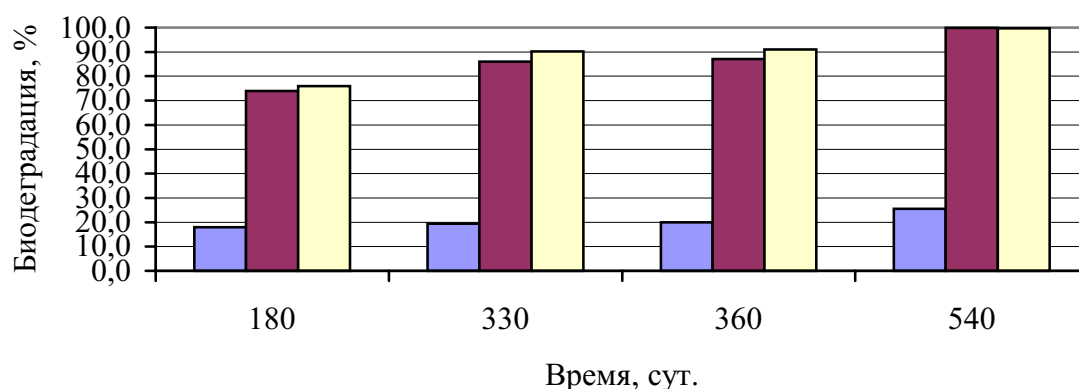
Таким образом, обработка нефтешлама «Родотрином» и введение системы аэрирования интенсифицировали процесс биоочистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов на 71,0-72,6% за 360 сут. и в верхнем и нижнем слоях.

После проведения биоочистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» был осуществлен посев бобово-злаковой смеси трав. Для этого предварительно были подобраны наиболее толерантные к нефти и нефтепродуктам виды растений, способные достаточно хорошо произрастать в условиях высокой плотности, низкой полной влагоемкости и остаточной загрязненности нефтешлама нефтью и нефтепродуктами. Подбор растений-фитомелиорантов производился по их всхожести из следующих видов: донник белый (*Metilotus albus*), костер острый (*Bromus squarrosus*), сорго суданское (*Sorghum sudanense*), люцерна кормовая (*Medicago sativa*), люпин белый (*Lu-*

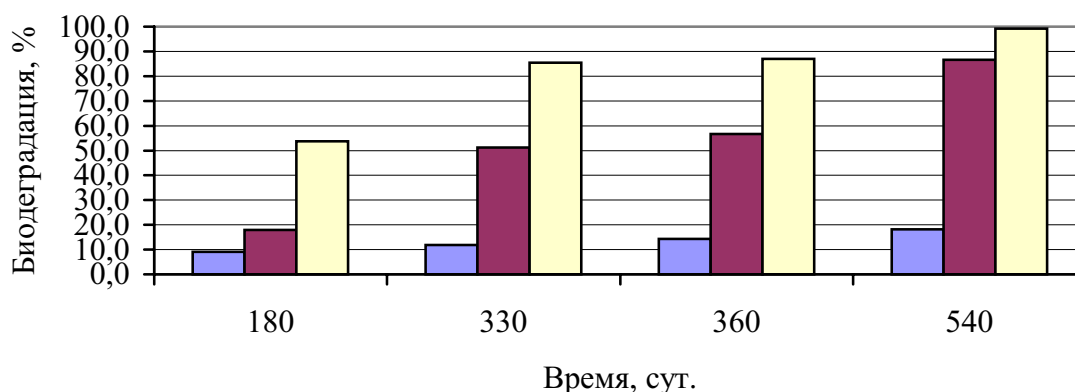
pinus albus) и эспарцет кормовой (*Onobrychis sativa*). Всхожесть каждого растения выражали в процентах относительно контроля на черноземе.

По результатам всхожести выявлено, что наиболее толерантными к условиям нефтешлама являлись коостер острый и сорго суданское. Всхожесть коостра составляла: 26% - для контроля, 86% - для опыта с «Родотрином» без системы аэрирования и 90% - для опыта с «Родотрином» и системой аэрирования; всхожесть сорго суданского - 12, 57 и 61% соответственно (рисунок 6). Преимуществом предлагаемых видов растений-фитомелиорантов также является то, что они местных популяций и широко применяются в сельском хозяйстве РБ. Кроме того, сорго суданское относится к бобовым травам и способно к симбиотическим взаимоотношениям с клубеньковыми азотфиксирующими бактериями.

а) верхний слой нефтешлама



б) нижний слой нефтешлама



- Контроль: нефтешлам без Родотрина и аэрации
- Нефтешлам+Родотрин
- Нефтешлам+Родотрин+система аэрации

Рисунок 5 - Биодegradация нефти и нефтепродуктов при очистке нефтешлама биопрепаратом «Родотрин»

Посев бобово-злаковой смеси, состоящей из костра и сорго суданского, показал, что нефтешлам после 360 сут. очистки биопрепаратом «Родотрин» не оказывал значительного негативного действия на подобранную бобово-злаковую смесь трав на протяжении всего периода их развития. Морфологические характеристики, такие как всхожесть, появление третьего листочка, высота травостоя, окраска листьев, длина корней в опыте с «Родотрином» без аэрирования и в опыте с «Родотрином» и системой аэрирования существенно не отличались от контроля (незагрязненный чернозем) на протяжении всего периода.

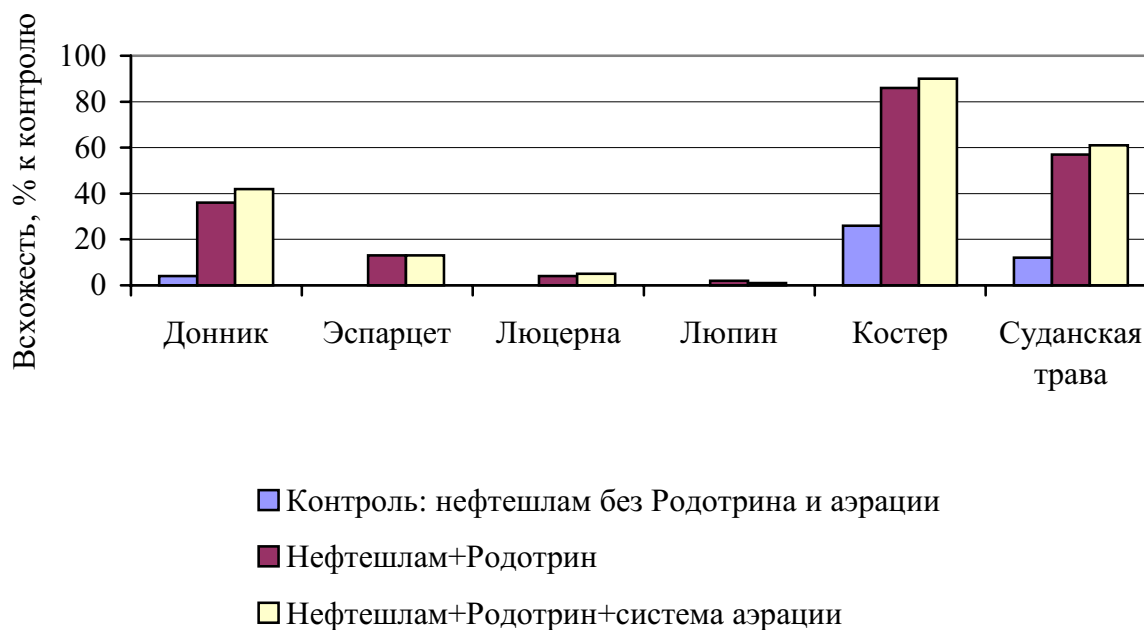


Рисунок 6 - Всхожесть растений после биоочистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин»

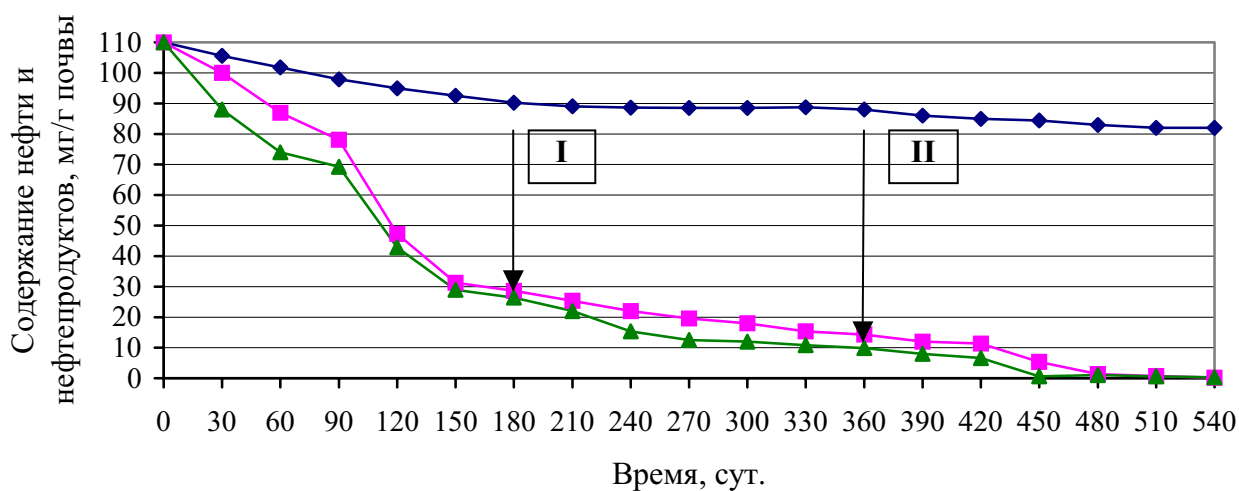
Продуктивность травосмеси в опыте с «Родотрином» без системы аэрирования составила 85%, а в опыте с «Родотрином» и системой аэрирования 98% от контроля на незагрязненном черноземе. Стимулирующее действие растений-фитомелиорантов было наиболее заметно для нижних слоев нефтешлама, которые характеризовались большей степенью остаточной загрязненности нефтью и нефтепродуктами по сравнению с верхними слоями (рисунок 7).

В процессе биоочистки нефтешлама с помощью «Родотрина», послойного расположения нефтешлама и чернозема и применения фитомелиорантов (костра и суданской травы) отмечалось увеличение активностей таких ферментов, как каталаза и дегидрогеназа, а также инвертазы.

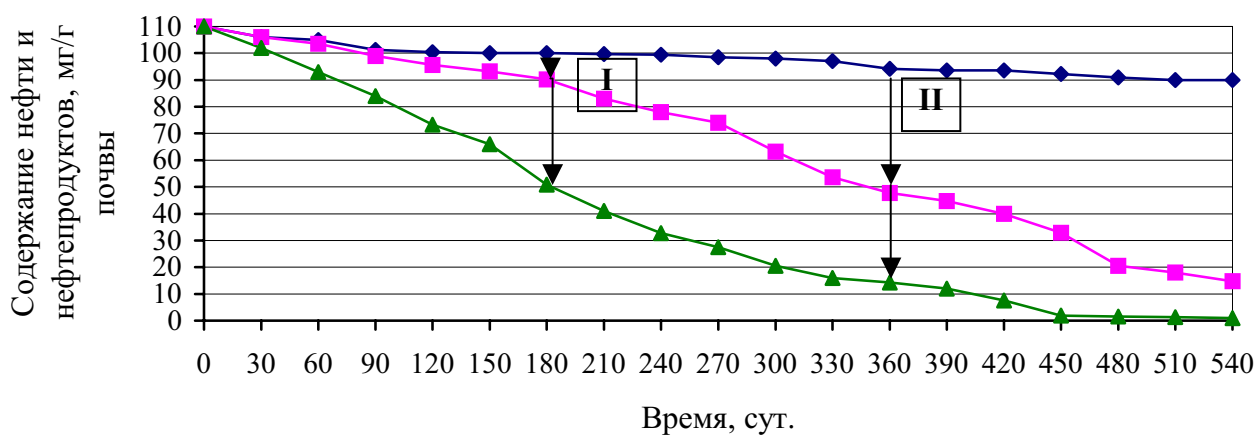
Активность инвертазы через 540 сут. биоочистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» путем аэрирования, послойного расположения нефтешлама и чернозема и применения фитомелиорантов (костра и суданской травы) составляла 68,4% в верхнем и 52,3% в нижнем слое от активности инвертазы незагрязненного чернозема. Исходя из того, что исследования многих авторов (Ковриго, Сулейманов) показали, что активность инвертазы лучше других ферментов отражает уровень плодородия и биологической

активности почвы, можно сделать вывод о появлении биологической активности системы.

а) верхний слой нефтешлама



б) нижний слой нефтешлама



◆ Контроль: нефтешлам без Родотрина и аэрации

■ Нефтешлам+Родотрин

▲ Нефтешлам+Родотрин+система аэрации

I - Дополнительное внесение биодобавок: биотрина и диаммофоса

II - Посев бобово-злаковой смеси трав

Рисунок 7 - Динамика содержания нефти и нефтепродуктов в нефтешламе на протяжении всего процесса биоочистки

Однократное внесение биопрепарата «Родотрин» обеспечивало прирост гетеротрофных бактерий на два порядка. При этом интродуцированные бактерии *Rh. erythropolis*, подсчет которых осуществлялся по характерному для них фенотипу на КА, составляли 60-86% общей численности гетеротрофов. В то время как в контроле максимальная численность гетеротрофных бактерий со-

ставила всего $6,0 \times 10^3$ кл/г почвы при резких колебаниях численности на протяжении всего времени культивирования.

Микробиологические исследования свидетельствовали о том, что данная технология биоочистки нефтешлама приводила к появлению и дальнейшему увеличению численности аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов и нитрифицирующих бактерий. Известно, что аэробные целлюлозоразрушающие микроорганизмы и нитрифицирующие бактерии наиболее чувствительны к загрязнению почвы нефтью и длительное время испытывают ее угнетающее воздействие, отвечая на это уменьшением численности микробных клеток (Исмаилов, 1968). Наблюдающийся прирост численности аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов и нитрифицирующих бактерий является дополнительным свидетельством того, что происходила очистка твердого нефтешлама от нефти и нефтепродуктов.

Таким образом, применение биопрепарата «Родотрин», системы аэрирования и фитомелиорантов (костра и суданской травы) позволяет снизить содержание нефти и нефтепродуктов ниже допустимого уровня за 540 сут. как в нижнем, так и в верхнем слоях нефтешлама модельной установки. Содержание нефти и нефтепродуктов в верхнем слое нефтешлама составило 0,2 мг/г почвы, в нижнем – 0,3 мг/г почвы через 540 сут. (рисунок 7). Нормативно допустимое содержание нефти и нефтепродуктов в почве - 1 мг/г почвы.

Разработанная технология позволяет снизить содержание нефти и нефтепродуктов ниже допустимого уровня (1000 мг/кг почвы) как в нижнем, так и в верхнем слоях нефтешлама установки за 540 сут. Полученные результаты позволяют сделать предположение, что разработанная технология биоочистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» может являться базовой для очистки донных осадков нефтешламовых амбаров в условиях специальных полигонов.

5 Использование бактерий *Rh. erythropolis AC-1339Д* для биоочистки буровых отходов от органических полимеров

Трудноудаляемым загрязняющим компонентом буровых отходов является органика, представленная широкой гаммой химических реагентов, применяемых в бурении. В связи с этим, при подборе органических добавок в буровой раствор необходимо учитывать их биостойкость с целью защиты от них окружающей среды. Целью исследований явилась оценка биостойкости некоторых крахмальных реагентов (кукурузный крахмал, крахмал fito-R и Габроза ENV) и модификаций КМЦ (КМЦ-Selpol-SL, КМЦ-Selpol-RX и КМЦ-Финфикс) относительно бактерий *Rh. erythropolis AC-1339Д*.

Для оценки биостойкости указанных крахмальных реагентов и модификаций КМЦ относительно бактерий *Rh. erythropolis* были проведены эксперименты в жидкой среде Маккланга с добавлением в качестве фактора роста дрожжевого автолизата. В качестве единственного источника углерода и энергии добавляли соответствующий буровой реагент: КМЦ в количестве 0,3, 0,5 и 1,0% масс.; крахмальный реагент в количестве 0,5 и 1,0 % масс. Культивирование производили в качалочных колбах на термостатированной качалке при температуре 30°C и частоте вращения 100 мин⁻¹ в течение 8 ч в сутки, в течение 16 ч в сут. колбы содержались в термостате при 30°C. О степени биодеградации

крахмала судили по уменьшению количества крахмала, а также косвенно по приросту численности бактерий. О степени биodeградации КМЦ судили по изменению удельной вязкости культуральной жидкости, а также косвенно по приросту численности бактерий и изменению pH среды.

Естественное разложение крахмальных реагентов и КМЦ аборигенной микрофлорой не превышала в среднем 3,0% за 10 сут. относительно первоначального содержания. Исходя из полученных результатов, рассматриваемые крахмальные реагенты по биостойкости можно расположить в следующем порядке: крахмальный реагент Габроза ENV > кукурузный крахмал > крахмал fito-R (таблица 3). Результаты опытов при начальных концентрациях КМЦ 0,3 и 0,5% масс. показывают, что по биостойкости исследованные модификации КМЦ располагаются в последовательности: КМЦ-Selpol-RX > КМЦ-Финфикс > КМЦ-Selpol-SL (таблица 4).

Таблица 3 - Степень биodeградации крахмальных реагентов бактериями *Rh. erythropolis AC-1339D* в жидкой минеральной среде

Крахмальный реагент	Степень биodeградации, %					
	Начальная концентрация 0,5%			Начальная концентрация 1,0%		
	4 сут.	8 сут.	10 сут.	4 сут.	8 сут.	10 сут.
Габроза ENV	64,0	83,6	88,1	65	82,9	85,5
Кукурузный крахмал	71,1	90,1	97,0	69	87,4	90,0
Крахмал fito-R	75,4	93,2	98,5	72	89,1	92,1

Таблица 4 - Степень биodeградации различных модификаций КМЦ бактериями *Rh. erythropolis AC-1339D* в жидкой минеральной среде

Модификация КМЦ	Степень биodeградации, %								
	Начальная концентрация 0,3%			Начальная концентрация 0,5%			Начальная концентрация 1,0%		
	4 сут.	8 сут.	10 сут.	4 сут.	8 сут.	10 сут.	4 сут.	8 сут.	10 сут.
КМЦ-Selpol-SL (СП=258)	63,0	96,8	99,3	69,0	88,3	94,0	63,6	87,5	90,0
КМЦ-Финфикс (СП=424)	60,0	92,0	99,0	64,1	87,0	92,0	57,1	84,0	88,4
КМЦ-Selpol-RX (СП=788)	53,0	84,6	98,1	58,0	79,4	88,6	40,0	73,0	82,0

Результаты прироста численности бактерий *Rh. erythropolis* на исследуемых крахмальных реагентах и модификациях КМЦ показали, что динамика численности родококков во всех опытах была сходной и выражалась в постепенном увеличении их количества на два порядка и последующем снижении к концу эксперимента на 10 сут. Вместе с тем, численность родококков была различной и зависела от вида используемых крахмальных реагентов и модификаций КМЦ. В опытах с крахмальными реагентами наибольшая численность бактерий на протяжении всего эксперимента наблюдалась в варианте с

терий на протяжении всего эксперимента наблюдалась в варианте с крахмалом fito-R, а наименьшая – с Габрозой ENV.

В опытах с модификациями КМЦ наибольшая численность бактерий на протяжении всего эксперимента наблюдалась в варианте с КМЦ-Selpol-SL, а наименьшая – в варианте с КМЦ-Selpol-RX. Анализ прироста численности родококков косвенно подтверждал приведенные выше расположения модификаций КМЦ и крахмальных реагентов по биостойкости. Сопоставление характера изменения биостойкости модификаций КМЦ со степенью их полимеризации показал, что биодеградация КМЦ бактериями *Rh. erythropolis AC-1339D* находится в обратной зависимости от их степени полимеризации.

Полученные данные по биостойкости крахмальных реагентов и модификаций КМЦ необходимо учитывать при подборе органических добавок в буровой раствор с целью защиты окружающей среды.

Проведено формирование математической модели, описывающей влияние температуры (от 10 до 40°C), pH (от 5 до 9), концентраций КМЦ (от 0,5 до 1,5% масс) и хлористого натрия (от 1 до 5% масс) на биомассу бактерий *Rhodococcus erythropolis AC-1339D* с целью повышения его активности деструктировать КМЦ. В результате проведенных экспериментов и расчетов уравнение регрессии имеет следующий вид: $y=0,049 + 0,324x_1 + 0,093x_2 + 0,002x_3 + 0,064x_4$, где x_1 – концентрация КМЦ, %; x_2 – концентрация хлористого натрия, %; x_3 – температура, °C; x_4 – pH. Таким образом, наибольшее влияние на прирост биомассы бактерий *Rh. erythropolis* оказывает концентрация КМЦ. При этом при увеличении температуры, pH и концентрации КМЦ происходит прирост биомассы, а при увеличении концентрации хлористого натрия – снижение биомассы бактерий *Rh. erythropolis*.

6 Промышленные испытания способа ликвидации нефтяных загрязнений с помощью биопрепарата «Родотрин», биогенных добавок и фитомелиорантов

Было проведено промышленное испытание способа ликвидации нефтяных загрязнений с помощью биопрепарата «Родотрин», биогенных добавок (биотрин и аммофос) и фитомелиорантов (сорго суданского и костра острого) в овраге в районе факелов высокого давления зоны №2 на территории ОАО «Новоуфимский нефтеперерабатывающий завод» (НУНПЗ) Республики Башкортостан. Суспензию биопрепарата «Родотрин» получали на промышленной установке Благовещенского биохимкомбината, г. Благовещенск Республики Башкортостан. Расход жидкой суспензии биопрепарата «Родотрин» составлял 1,0 - 1,3 л/м² в зависимости о степени загрязнения. Биопрепарат наносили путем дождевания из автоцистерны с активным сливом. Через 40 сут. на всей территории дополнительно вносили биодобавки для микроорганизмов: биотрин из расчета 8 - 10 г/м² и аммофос – 1 - 2 г/м² (в сухом виде). Одновременно проводили рыхление. На территории площадью 90 м² произвели засев смеси трав: костер и люцерна, взятых в соотношении 1:1.

Несмотря на короткий срок испытания и неблагоприятные для жизнедеятельности микроорганизмов погодные условия (дожди во время обработки и засушливый период на протяжении последующих 20 - 30 сут.) опытный участок характеризовался более высоким приростом численности гетеротрофных мик-

роорганизмов (на 4-6 порядка) по сравнению с контрольным участком (на 1-2 порядка). При анализе всхожести травы на 40 сут. после посева было отмечено появление ростков практически по всей поверхности опытного участка. При этом за 4 мес. была достигнута высокая степень очистки почвы опытного участка от нефти и нефтепродуктов – в среднем 83,1% для слоя 0 - 10 см и 64,2% для 10 - 20 см, что на 72,7 и 58,4% больше степени очистки почвы от нефти и нефтепродуктов на контрольном участке.

Проведение работы и ее результаты подтверждены актом по договору № БНТ/у/3 – 1/2/4964/00/ООС ОАО «НУНПЗ» от 19.05.2000. Таким образом, способ рекультивации загрязненной нефтепродуктами почвы с помощью биопрепарата «Родотрин», биогенных добавок (биотрин и диаммофос) и фитомелиорантов (костра острого и сорго суданского) показал высокую эффективность в условиях Башкортостана и может рекомендоваться для широкого внедрения при ликвидации нефтяных загрязнений почвы в климатических условиях Республики Башкортостан.

ВЫВОДЫ

1. Впервые установлена способность бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС–1339Д, являющихся основой нефтеокисляющего биопрепарата «Родотрин», продуцировать биоэмульгаторы углеводородов нефти при росте на этаноле, гексадекане и нефти.

2. Доказана стимулирующая роль продуктов окисления керогена сланцев на рост и нефтеокисляющую активность бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС–1339Д, являющихся основой нефтеокисляющего биопрепарата «Родотрин», как в жидкой среде, так и в почве. При этом внесение ВМК в количестве 0,002% масс. позволяет интенсифицировать процесс биodeградации нефти и нефтепродуктов бактериями *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС–1339Д на 20 - 40% за 1 - 3 сут.

3. Показана возможность интенсификации биоочистки нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» за счет использования таких растительных отходов, как остатки бобовых трав, солома, опилки и гречишная шелуха, в количестве 1 часть на 10 частей нефтешлама (по массе), а также внесения чернозема в количестве 1 часть на 2 части нефтешлама (по массе). Совместное применение биопрепарата «Родотрин», чернозема и мелиорантов (солома, остатки бобовых трав, опилки и гречишная шелуха) позволяет очистить нефтешлам от нефти и нефтепродуктов на 70,0 - 99,8% за 90 сут. и снизить его фитотоксичность.

4. Разработана технология биоочистки нефтешлама (донные отложения) от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» путем аэрирования, послойного расположения нефтешлама и чернозема, применения фитомелиорантов (для условий республики Башкортостан). При этом рекомендуется:

- обработка непосредственно нефтешлама биопрепаратом «Родотрин», внесение совместно с биопрепаратом биостимуляторов (продукты окисления керогена сланцев - 0,002% масс., биотрин - 0,05% масс. и диаммофос - 0,03% масс.), внесение опилок (1 часть на 10 частей нефтешлама по массе);

- послойное размещение обработанного нефтешлама, чернозема и песка в локальных установках, применение системы аэрирования в виде перфориро-

ванных труб, регулярное проведение агрохимических приемов (полив, рыхление без перемешивания слоев);

- внесение через 6 мес. биодобавок: биотрина (0,05% масс.) и диаммофоса (0,03% масс);

- посев смеси костра острого и сорго суданского из расчета 3,0 г/м² через 12 мес. биоочистки нефтешлама.

Разработанная технология позволяет снизить содержание нефти и нефтепродуктов ниже допустимого уровня (1000 мг/кг почвы) как в нижнем, так и в верхнем слоях нефтешлама установки за 540 сут. Полученные результаты позволяют сделать предположение, что разработанная технология биоочистки нефтешлама от нефти и нефтепродуктов биопрепаратом «Родотрин» может являться базовой для очистки донных осадков нефтешламовых амбаров в условиях специальных полигонов.

5. Впервые была произведена оценка биостойкости некоторых полимерных буровых добавок: крахмальных реагентов (кукурузный крахмал, крахмал fito-R и Габроза ENV) и КМЦ (КМЦ-Selpol-SL, КМЦ-Selpol-RX и КМЦ-Финфикс) относительно бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС -1339Д. Наиболее биостойкой из рассмотренных модификаций КМЦ для бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д является КМЦ-Selpol-RX, а из крахмальных реагентов - крахмальный реагент Габроза ENV.

6. Проведено формирование математической модели, описывающей влияние температуры (от 10 до 40°C), pH (от 5 до 9), концентраций КМЦ (от 0,5 до 1,5% масс) и хлористого натрия (от 1 до 5% масс) на биомассу бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1339Д с целью повышения его активности деструктировать КМЦ.

7. Проведено промышленное испытание способа ликвидации нефтяных загрязнений с помощью биопрепарата «Родотрин», биогенных добавок (биотрин и аммофос) и фитомелиорантов (костер острый и сорго суданское). в овраге в районе факелов высокого давления зоны №2 на территории ОАО «Новоуфимский нефтеперерабатывающий завод» (Башкортостан) За 4 мес. степень очистки почвы от нефти и нефтепродуктов составила в среднем 64 - 83% на глубине 0 - 20 см.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Г.Г.Ягафарова, В.Б. Барахнина,Э.М. Гатауллина Э.М., Ильина Е.Г. Особенности действия экотоксикантов на клетки бактерий // Тез. докл. конференции по производству и применению материалов и химических реагентов «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии» «РЕАКТИВ-1999». - Уфа-Москва, 1999. – С.116.

2. Ильина Е.Г., Барахнина В.Б. Новый нефтеокисляющий штамм *Fusarium species* № 56 – эффективный деструктор нефтяных загрязнений в почве и воде. // Тез. докл. V Международной конференции по интенсификации нефтехимических процессов «Нефтехимия - 99». - Нижнекамск, 1999. – С.211.

3. Ягафарова Г.Г., Барахнина В.Б., Ильина Е.Г., Сафаров А.Х. Биореккультивация нефтезагрязненной почвы // Материалы 2-го Международного симпозиума «Наука и технология углеводородных систем». - Уфа, 2000. – С. 247-248.

4. Патент РФ №2160718 от 28.06.99. Ягафарова Г.Г., Сухаревич М.Э., Барахнина В.Б., Ильина Е.Г. и др. Способ очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов. – Б.И. – 2000, №7.
5. Ягафарова Г.Г., Гатауллина Э.М., Барахнина В.Б., Ильина Е.Г. Сравнительная характеристика биостойкости зарубежных и отечественных буровых реагентов // Экологический вестник. – 2000, №2. – С.36-38.
6. Ягафарова Г.Г., Мавлютов М.Р., Ильина Е.Г. и др. Технология биочистки нефтешламов и буровых отходов // Материалы 2-ой Всероссийской научно-практической конференции «Отходы 2000». – Уфа, 2000. – С.63-73.
7. Сафаров А.Х., Ильина Е.Г., Петрова С.В., Ягафарова Г.Г. Поиск микроорганизмов-деструкторов серусодержащих компонентов нефти // Тез. докл. 50-й науч.-техн. конф. студ., аспирантов и молодых ученых, Уфа, 12-20 апр., 2000. – Уфа, 2000. – С.40.
8. Поставская Т.М., Г.Г.Ягафарова, Ильина Е.Г. и др. Биоремедиация нефтешламов с использованием биопрепарата «Родотрин» и мелиоранта // Тез. докл. 55-й Юбилейной межвузовской студенческой научной конференции РГУ нефти и газа имени И.М.Губкина «НЕФТЬ И ГАЗ – 2001». – Москва, 2001. – С.9.
9. Ягафарова Г.Г., Ильина Е.Г., Сафаров А.Х. и др. Биоремедиация нефтезагрязненной почвы // Тез. докл. III Конгресса Нефтепромышленников России «Нефтепереработка и нефтехимия». – Уфа, 2001. – С. 207-208.
10. Ягафарова Г.Г., Ильина Е.Г., Сафаров А.Х. и др. Оценка биодеструкции некоторых модификаций КМЦ // Тез. докл. школы-семинара «Химическая экология». – Уфа, 2001. – С.194-195.
11. Ягафарова Г.Г., Ильина Е.Г., Сафаров А.Х. и др. Оптимизация роста родококков в среде с КМЦ // Тез. докл. XV международной научно-технической конференции по производству и применению материалов и химических реагентов «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии» «РЕАКТИВ-2002». – Уфа, 2002. – С.176-177.