

На правах рукописи

СИДОРОВ АЛЕКСАНДР ВЯЧЕСЛАВОВИЧ

**УПРАВЛЯЕМАЯ БИОРЕМЕДИАЦИЯ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ В
ПРИРОДНЫХ ВОДАХ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ СТОКАХ**

Специальность 03.00.23 – Биотехнология
03.00.16 - Экология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Уфа – 2009

Работа выполнена на кафедре ботаники и экологической биотехнологии Татарского государственного гуманитарно-педагогического университета

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Морозов Николай Васильевич

Официальные оппоненты: доктор технических наук
Селезнев Владимир Анатольевич

доктор биологических наук, профессор
Логинов Олег Николаевич

Ведущая организация: ГОУ ВПО «Уфимский государственный нефтяной
технический университет»

Защита состоится «23» декабря 2009 г. в 14-00 часов на заседании Объединенного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций ДМ 002.136.01 при Институте биологии Уфимского научного центра РАН по адресу: 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 69. тел./факс (3472) 35-62-47. E-mail: ib@anrb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Уфимского научного центра РАН и на официальном сайте АН РБ по адресу: <http://www.anrb.ru/inbio/dissovet>

Автореферат разослан «__» ноября 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент



Р.В. Уразгильдин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Проблема качественного истощения водных ресурсов актуальна для всего мира, в том числе и России. Наиболее приоритетным загрязнителем водных экосистем современности являются нефть и продукты её переработки (бензин, керосин, мазут, масла, асфальтены и др.), которые, попадая в водоем, изменяют его физическое и химическое состояние и, как следствие, качество вод. Это связано прежде всего с возрастанием объёма технологических потерь нефти, обусловленным добычей, транспортировкой и её ненадлежащим хранением. При современных объёмах добычи нефти в мире её потери достигают 50 млн. тонн в год, что в нашей стране составляет почти 5% от общего объёма (Аренс, 1999). Тонна разлитой нефти загрязняет 12 км² водной поверхности. Имеющиеся литературные данные по загрязнению окружающей среды нефтью и персистентными её соединениями показывают актуальность проблемы очистки и восстановления нефтезагрязнённых водных объектов.

Последнее время биологический метод очистки углеводородных загрязнений, основанный на применении микроорганизмов деструкторов нефти и нефтепродуктов, становится приоритетным при любых количествах и масштабах загрязнения. Он характеризуется как наиболее экономический, эффективный и безвредный способ очистки.

Изучение свойств нефтеокисляющих микроорганизмов в аспекте их применения для биodeградации нефтяных загрязнений и биоремедиации нефтесодержащих вод и почв представляет особый интерес.

Цель диссертационной работы – повышение деструкционной активности углеводородокисляющих микроорганизмов для интенсификации биологической очистки природных вод и производственных технологических стоков, научное и практическое обоснование разработанной биотехнологической схемы глубокой очистки высококонцентрированных углеводородсодержащих стоков.

В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

1. Определение эффективности окисления нефти и нефтепродуктов монокультурой и сообществом углеводородокисляющих микроорганизмов в различных изменяющихся условиях среды.
2. Оптимизация условий роста и развития углеводородокисляющей микрофлоры в периодических и непрерывных условиях с целью получения активной биомассы для биodeградации нефтепродуктов.
3. Поиск нетрадиционных источников питания - легкоокисляемых органических веществ для биостимуляции, биodeградации нефти.
4. Оценка эффективности применения углеводородокисляющих микроорганизмов для очистки природных нефтезагрязнённых вод.
5. Разработка и апробация биотехнологической схемы очистки смешанных нефтесодержащих сточных вод ОАО «Казаньоргсинтез» с использованием специально созданного для этой цели струйно-отстойного аппарата (СОА) и выведение всей технологии на режим очистки и доочистки сточных вод.

Научная новизна работы. Впервые использован струйно-отстойный аппарат в качестве локальной стадии биodeградации углеводородсодержащих сточных вод перед подачей их в аэротэнки после первичных отстойников. Разработана

технологическая схема и установлены параметры локальной очистки углеводородсодержащих стоков. СОА может быть применен как на стадии основной очистки, так и доочистки для наиболее полного извлечения нефти и углеводородов из технологических стоков.

На основе оценки состава и свойств сточных вод, анализа роста углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) впервые предложено использовать в качестве ускорителя биodeградации нефти и нефтепродуктов комплексные легкоокисляемые органические обогатители.

Изучен процесс естественного самоочищения природного водоёма от нефтяного загрязнения и показана эффективность использования УОМ для биологической очистки природных вод в модельных экосистемах.

Показано, что оптимизировать биоремедиацию нефтяных загрязнений позволяет добавление в состав водной среды не только биогенных элементов, но и комплексных обогатителей, служащих легкоокисляемой органикой. Комплексный подход использования микроорганизмов, добавление биогенов, легкоокисляемого субстрата в качестве соокисления и биостимуляторов, в концентрациях 2-5 мг/дм³, с аэрацией сточных вод, улучшает эффект очистки от нефтяных загрязнений, что может стать основой управления качеством нефтезагрязнённых природных и сточных вод нефтехимических предприятий.

Положения, выносимые на защиту.

1. Сообщества углеводородокисляющих микроорганизмов способны использовать нефть и нефтепродукты в качестве единственного источника углерода и энергии.
2. Биогенные элементы, комплексные органические индуцирующие вещества, биостимуляторы в комплексе с УОМ, аэрацией и регулированием температуры окружающей среды в сбалансированном соотношении позволяют ускорить процесс разложения нефти и нефтепродуктов и повысить его эффективность.
3. Легкоокисляемые органические субстраты растительного происхождения являются источником биостимуляции, биodeградации нефти УОМ.
4. Использование системного подхода в процессе очистки вод от углеводородов позволяет сократить сроки и ускорить темп проведения работ по восстановлению естественного состояния экосистемы.
5. Применение СОА, разработанная на его основе биотехнологическая схема, как стадия очистки сточных вод, включение аппарата в существующую схему очистки производственных стоков позволяет ускорить процесс биodeградации труднодоступных фракций нефти и нефтепродуктов, а также глубокой очистки углеводородсодержащих стоков и тем самым подготовить сточные воды до норм оборотного водоснабжения или отвода их в естественный водный источник без ущерба его санитарного состояния.

Практическая значимость. В результате научных исследований разработан метод локальной очистки вод от нефтезагрязнений. Установлены оптимальные параметры и подобраны условия развития углеводородокисляющих микроорганизмов, при которых достигается максимальная их численность и высокая эффективность деструкции нефти и нефтепродуктов. На основании полученных результатов сформулированы рекомендации по применению биогенных элементов и комплексных органических биостимуляторов в процессе биodeградации углеводородов нефти в водной среде. Разработана и испытана технологическая

схема очистки производственных сточных вод ОАО «Казаньоргсинтез». В результате применения струйно-отстойного аппарата достигнуто увеличение скорости и эффективности окисления труднодоступных фракций нефтепродуктов для микробной деградации в целом и очистки углеводородсодержащих сточных вод до норм сброса в аэротенки. Проведены промышленные испытания, которые подтвердили эффективность и высокую степень очистки сточных вод ОАО «Казаньоргсинтез» в процессе биоокисления углеводов УОМ.

Личное участие автора. Автором проведен аналитический обзор литературы, спланированы и выполнены лабораторные опыты, полупроизводственные испытания, в результате которых получена экспериментальная база данных и проведена их интерпретация, были написаны статьи и тезисы докладов.

Апробация работы. Основные положения и результаты диссертационной работы были представлены на **международных и всероссийских конференциях**: 1-ой Всероссийской научной конференции «Ресурсосберегающие, водо – и почвоохранные биотехнологии, основанные на использовании живых экосистем» (Казань, 2006), 4-ой Международной конференции «Сотрудничество для решения проблемы отходов» (Харьков, 2007), V-ом Международном конгрессе «Управление отходами и природоохранными технологиями, ВэйсТек –2007» (Москва, 2007), Международной молодежной научной конференции «XI Туполевские чтения» (Казань, 2007), научно – практической конференции «Экологические проблемы урбанизированных территорий» (Елец, 2007), научно - практической конференции «Эколого-географические исследования в Среднем Поволжье» (Казань, 2008), VI-ой Международной научно-практической конференция (Тамбов, 2008), Всероссийской научно-практической конференции «Инновационные подходы к естественнонаучным исследованиям и образованию» (Казань, 2009), научно-исследовательских работ студентов «Актуальные естественнонаучные исследования» (Казань, 2009), V-ом Московском международном конгрессе «БИОТЕХНОЛОГИЯ» «Состояние и перспективы развития» (Москва, 2009), X-ой международной конференции молодых учёных «Пищевые технологии и биотехнологии» (Казань, 2009), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы охраны почв, биологического разнообразия и здоровья человека в условиях трансформированной среды обитания» (Оренбург, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 21 печатная работа, из них 2-в рекомендованных ВАК журналах, материалы доложены и обсуждены на международных и всероссийских конференциях.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 167 страницах, состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, экспериментальной части, результатов исследования, выводов, списка литературы и приложений, включает 15 таблиц, 28 рисунков. Список литературы включает 248 литературных источников.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность и признательность за руководство работой, помощь в выполнении исследований и поддержку научному руководителю Морозову Николаю Васильевичу, сотрудниками кафедры ботаники и экологической биотехнологии ТГГПУ, а также начальнику лаборатории цеха нейтрализации и очистки промышленно-сточных вод ОАО «Казаньоргсинтез» Гицаревой Е.В., коллегам и соавторам публикаций.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Совершенствование очистки сточных и природных вод от нефти и нефтепродуктов по данным отечественных и зарубежных авторов (обзор литературы)

На основании литературных данных выяснено, что при целенаправленном применении аборигенной гетеротрофной углеводородокисляющей микробиоты водоемов и сточных вод, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, изучении условий развития, регулировании концентрации биогенных элементов, использовании соокислителей или биостимуляторов, поддержании реакции среды и температуры в нужном диапазоне, можно управлять процессом бактериального самоочищения водной среды от углеводородов различного класса с переводом их в безвредные продукты окисления, т.е. CO_2 и H_2O . Сформулированы цели и задачи работы.

Глава 2. Объекты и методы исследования

В лабораторных, полевых условиях, а также полупромышленных производственных испытаниях в течение 2003 - 2008 гг. были изучены процессы биodeградации нефти и нефтепродуктов в природных водах и технологических производственных стоках. В процессе биodeградации загрязнённых водных объектов использовали штаммы гетеротрофных углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ), выделенных из производственных сточных вод, действующих очистных сооружений предприятия органического синтеза ОАО «Казаньоргсинтез» и природных нефтезагрязнённых вод, идентифицированных до вида. Для оптимизации условий роста и развития углеводородокисляющей микрофлоры в периодических хеостатных условиях с целью получения активной биомассы использовали биогенные элементы и комплексные обогатители. В качестве нетрадиционных источников питания для достижения биостимуляции биodeградации нефти были выбраны шелуха кукурузы, ячменя, гречихи и вермикулит с различным размером частиц и концентрацией.

Для культивирования микроорганизмов и определения нефтеокисляющей активности применяли жидкую минеральную среду Мюнца. В качестве источника углерода использовали стерильную нефть Альметьевского месторождения. Также применяли синтетическую среду с углеводородами (сточная вода ОАО «Казаньоргсинтез»). Культивирование бактерий, в зависимости от цели эксперимента, проводили в статических условиях при температуре 28°C в накопительных колбах объемом 1000 см^3 , либо в аппарате непрерывного культивирования микроорганизмов (АНКУМ-2М) объемом 10000 см^3 . Длительность культивирования в накопительных колбах составляла 96 часов, в ферментере - 4 часа. Рост УОМ оценивали по оптической плотности и методом титра, путём посева проб воды на среду МПА в чашки Петри методом предельных разведений с последующим подсчётом выросших колоний (Герхардт, 1983).

Критериями суждения о биологическом окислении нефти и нефтепродуктов в воде и способности к самоочищению водоемов служили следующие параметры: изменение общего количества УОМ прямым счетом (Герхардт, 1983), оптической плотностью на фотоэлектрокалориметре (КФК-2), БПК₅ и БПК_{полное}, растворенный кислород, ХПК, общее количество NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , (Чернокальский, 1980), P_2O_5

(Методика выполнения измерения массовой концентрации фосфат ионов..., 2004), реакцию среды измеряли с помощью рН метра 410. Отбор проб, их подготовку, микробиологическое и аналитическое исследования проводили по стандартным методикам. Содержание остаточных углеводов определяли весовым методом, используя в качестве экстрагента четыреххлористый углерод (Лурье, 1984).

Объектом исследований служили различные фракции углеводов нефти и нефтесодержащие природные, а также смешанные сточные воды ОАО «Казаньоргсинтез».

Для постановки лабораторного эксперимента использовали колбы объемом 1 дм³ с минеральной средой Мюнца с нефтью и нефтепродуктами, а также УОМ (моно – три и поликультуры). Влияние условий среды на развитие и биодegradацию углеводов нефтеокисляющими микроорганизмами исследовали по таким параметрам, как: температура 23, 28, 37⁰С, аэрация среды, выбор вида и концентрации биогенных элементов, индуцирующих соединений (комплексные обогатители) и питательных веществ. Для поддержания заданных параметров использовали термостат и перемешивание опытного варианта на качалке в течение 12 часов. Пробы для микробиологических и химических анализов отбирали через каждые два дня, длительность эксперимента составляла 21 день.

Активную биомассу отселектированных нефти и углеводородоокисляющих микроорганизмов получали на АНКУМ-2М. В процессе культивирования на среде Мюнца и сточной воде предприятия ОАО «Казаньоргсинтез» поддерживали заданную температуру 25-28⁰С, аэрацию и рН =7,2. Исследовали влияние биогенных элементов, комплексных обогатителей, углеводов в различных соотношениях. Нефть и нефтепродукты, не подвергшиеся окислению, определяли гравиметрическим методом (Лурье, 1984).

При подборе легкоокисляемых органических субстратов использовали шелуху кукурузы, ячменя, гречихи и вермикулит с различным количеством УОМ. Опыты проводили в колбах объемом 1 дм³ и моделированных микроэкосистемах, которыми являлись аквариумами объемом 50 дм³. Согласно вариантам (не менее трехкратная повторность) вносили по 2 мл/дм³ двухсуточной культуры углеводородоокисляющих микроорганизмов, 2-5 г/дм³ исследуемого субстрата и 20 мг/дм³ нефти. Эксперимент длился в течение 21 дня, измерения основных показателей вели через каждые три дня.

Натурные эксперименты по изучению процесса естественного самоочищения проводили в естественных условиях. Пробы отбирали в течение двух лет, в весенний, летний и осенний периоды.

С целью интенсификации процессов биологической очистки сточных вод в очистных сооружениях ОАО «Казаньоргсинтез» от труднодоступных фракций нефти и нефтепродуктов (с начальным содержанием углеводов до 183 мг/дм³) производили разработку и апробацию биотехнологической схемы с использованием СОА.

Статистическую обработку результатов проводили в стандартной компьютерной программе «Microsoft Excel». Группу данных считали однородной, если среднее квадратичное отклонение Q в группе не превышало 13 %. Различие между группами считали достоверным при критерии вероятности $p < 0.05$.

Глава 3. Экспериментальная часть

3.1. Исследование условий роста и способности гетеротрофных микроорганизмов, выделенных из сточных вод, окислять различные фракции углеводов

Рассмотрены условия роста УОМ и их способность окислять различные нефтепродукты. Биодegradации подвергали нефть и нефтепродукты в концентрации 0,5% по объему. В качестве УОМ использовали бактерии родов: *Pseudomonas* (1 вид), *Acetobacterium* (1 вид), *Corinebacterium* (1 вид), *Micrococcus* (1 вид), *Rhodococcus* (1 вид), *Brevibacterium* (1 вид), *Bacillus* (1 вид), *Nocardia* (1 вид), *Sarcina* (1 вид).

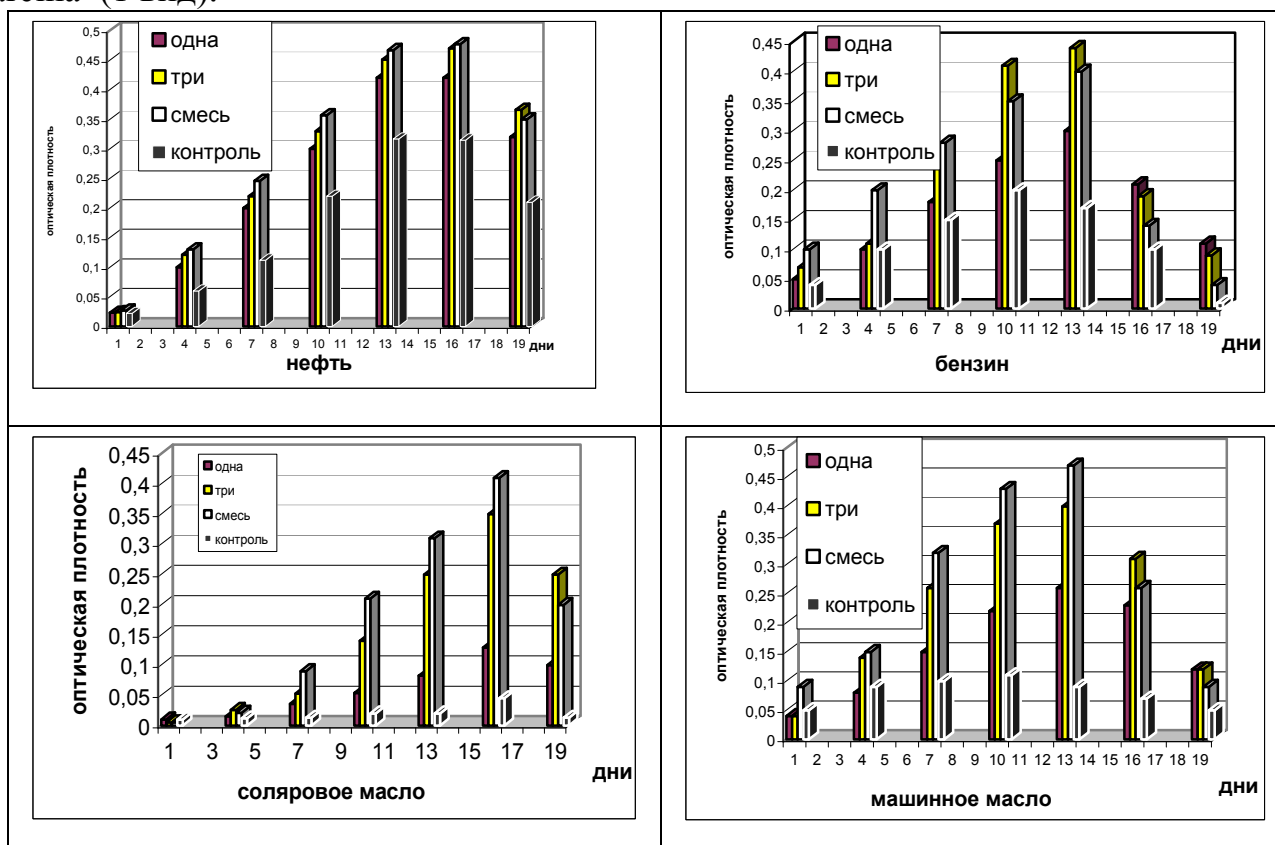


Рис.1 Динамика роста численности нефтеокисляющих бактерий в процессе окисления нефти, бензина, солярового и машинного масел

Предварительными опытами было установлено, что интенсивное развитие всех испытуемых микроорганизмов в среде с нефтью, бензином, соляровым и машинным маслами наблюдается на 13-16 дни, и составляет в среднем $3,45 \cdot 10^8$ кл/мл при росте на всех субстратах (рис.1). На эффективность и скорость деструкции нефти и нефтепродуктов влияют состав и виды микроорганизмов, с которыми они контактируют. Степень окисления нефтепродуктов максимальна при участии большего количества смешанных видов нефтеокисляющих бактерий, относящихся к родам: *Pseudomonas*, *Acetobacterium*, *Corinebacterium*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Sarcina*. В присутствии трех культур (роды *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Brevibacterium*) степень окисления уменьшается, а в среде с одной монокультурой (*Pseudomonas*) она минимальна. Исключение составляет опыт с бензиновой фракцией, растворимость которой максимальна по сравнению с другими применяемыми углеводородными компонентами, что

облегчает транспорт молекул в клетку и её окисление. Кроме того, более высокая эффективность применения консорциума культур объясняется и сложностью субстрата, каковым является товарная нефть и масла. Эффективность деструкции бензина достигает 90% при применении трёх культур, что связано, по-видимому, с избирательностью и использованием этими УОМ лёгких фракций нефти. На это указывает нарастание численности микрофлоры в одинаковые сроки, которое наблюдалось на 13 – 16 дни эксперимента (рис.1).

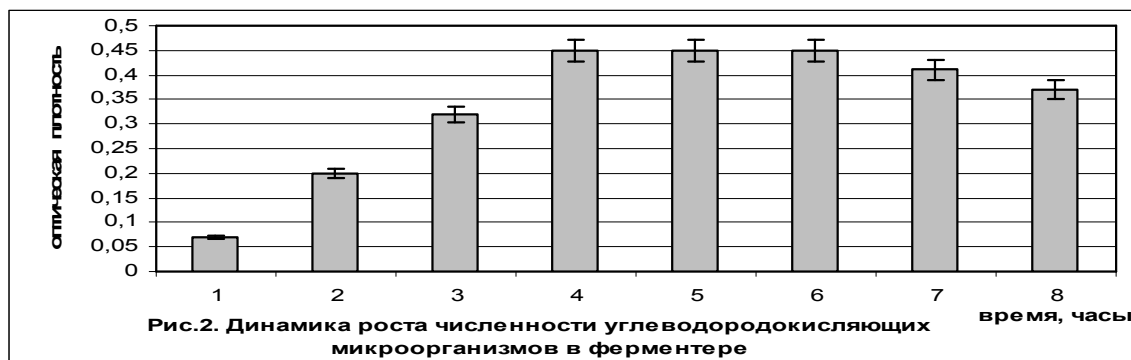
Присутствие свободного кислорода является необходимым условием окисления нефти любой химической структуры. Полученные нами в ходе исследований данные свидетельствуют о том, что процесс аэрации ускоряет рост численности УОМ, что отражается на эффективности деструкции нефтепродуктов. При этом зафиксировано увеличение степени окисления товарной нефти до 91%, бензина до 94%, солярового масла до 83%, машинного масла до 80%.

Температура среды, так же, как и аэрация, оказывает значительное влияние на процесс биодеструкции нефти и нефтепродуктов и является наиболее значимым лимитирующим фактором всех метаболических процессов. Нашими исследованиями показано, что оптимальный температурный интервал для роста и развития используемых сообществ УОМ является 23⁰С - 28⁰С. Установлено, что при указанных температурных интервалах углеводороды разрушаются культурами, участвующими в эксперименте с эффективностью 80-91%. Максимальный уровень загрязнения снимается при $t = 28^{\circ}\text{C}$. Отклонения от этой температуры, как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения, замедляют процесс деструкции. Это связано с тем, что исследуемая группа УОМ является мезофильной, и указанные температурные условия для них наиболее оптимальны. Следует также учесть, что при повышении температуры наблюдается уменьшение растворимости кислорода в воде, что отрицательно сказывается на росте и развитии сообщества бактерий.

3.2. Оптимизация условий выращивания аборигенных форм углеводородоокисляющих микроорганизмов с целью получения активной биомассы хемостатным культивированием. Проведение модельных опытов по биодegradации нефтяных загрязнений в сточных водах ОАО «Казаньоргсинтез»

При получении накопительной культуры нефтеокисляющих микроорганизмов, используемых в процессе очистки нефти загрязненных сточных вод, была предпринята попытка отыскать для исследуемых культур альтернативные источники питания – это комплексные обогатители, а также использовать традиционные соединения, которыми явились неорганические формы азота и фосфора.

Исследованиями выявлено, что при хемостатном культивировании девяти культур УОМ в ферментере на среде Мюнца максимальное количество микроорганизмов наблюдается на 4-й час после начала культивирования, что составляет по оптической плотности 0,45 соответствующей численности бактерий $3,45 \cdot 10^8$ кл/см³ (рис.2).



Соотношение биогенов БПК_{полное}:N:P, равное 100:5:1 в стоке, всегда стимулировало рост биомассы популяции микроорганизмов. Под их влиянием достигнут рост численности популяции УОМ до 291 млн. кл/см³. При изменении соотношения в сторону увеличения биогенов наблюдалось угнетение роста популяции микроорганизмов за счёт образования токсических соединений и накопление нитратов, что приводило к снижению численности нефтеокисляющих бактерий до 10,7 млн. кл/см³ (табл.1).

Потребление источника азота и фосфора на единицу нефтепродукта зависит как от качественного состава углеводородного загрязнителя, так и от его концентрации в среде. Принимая во внимание этот факт, можно целенаправленно оптимизировать процесс очистки, полностью удовлетворяя потребности УОМ в содержании в среде компонентов азотно-фосфорного питания, и не допускать накопления избытков удобрений в окружающей среде.

Таблица 1

Условия выращивания аборигенных форм углеводородокисляющих микроорганизмов в нефти

Концентрация нефти, мг/ дм ³	Соотношение БПК _{полное} : N :P	Плотность суспензии микроорганизмов		Число клеток, кл/см ³	
		температура культивирования °С			
		23	28	23	28
контроль		0,05	0,08	3,83·10 ⁷	6,1·10 ⁷
10	100:2.5:0.5	0,17	0,2	1,3·10 ⁸	1,53·10 ⁸
	100:05:01	0,24	0,27	1,83·10 ⁸	2,07·10 ⁸
	100:10:02	0,13	0,18	9,97·10 ⁷	1,38·10 ⁸
	100:20:04	0,08	0,12	6,1·10 ⁷	9,2·10 ⁷
20	100:2.5:0.5	0,21	0,25	1,61·10 ⁸	1,92·10 ⁸
	100:05:01	0,3	0,38	2,3·10 ⁸	2,91·10 ⁸
	100:10:02	0,15	0,19	1,15·10 ⁸	1,46·10 ⁸
	100:20:04	0,08	0,11	6,1·10 ⁷	8,4·10 ⁷
40	100:2.5:0.5	0,16	0,19	1,23·10 ⁸	1,46·10 ⁸
	100:05:01	0,18	0,23	1,38·10 ⁸	1,76·10 ⁸
	100:10:02	0,12	0,16	9,2·10 ⁷	1,23·10 ⁸
	100:20:04	0,06	0,1	4,6·10 ⁷	7,6·10 ⁷

Эффективность биоокисления нефти и её производных зависит также от концентрации углеводородов в сточной воде. Нами установлено, что максимальное биоокисление углеводородов стока достигается при начальной концентрации 20 мг/дм³ и температуре - 28⁰С (табл.1), где в качестве источника углеводородов выбрана нефть, а не машинное масло (эти данные подтверждают результаты предыдущей серии экспериментов). Применение индуцирующих соединений в различных концентрациях от 17,5·10⁻⁶М до 150·10⁻⁶М отражается на степени окисления нефти и численности УОМ, оптимальной при этом является 35·10⁻⁶М, что повышает численность клеток до 3,45·10⁸ кл/см³ и степень очистки 86% (табл.2).

Таблица 2

Параметры и условия выращивания аборигенных форм углеводородокисляющих микроорганизмов

Условия	Индуцирующие соединения	Оптическая плотность суспензии УОМ	Число клеток, кл/см ³	Эффективность очистки, %
нефть, 20 мг/дм ³ соотношение БПК _{полное} :N:P 100:05:01 температура, 28 ⁰ С	17,5·10 ⁻⁶ М	0,13	9,97·10 ⁷	64±1
	35·10 ⁻⁶ М	0,45	3,45·10 ⁸	86±1,7
	70·10 ⁻⁶ М	0,41	3,14·10 ⁸	71±2
	150·10 ⁻⁶ М	0,12	9,2·10 ⁷	58±1,1

Регулирование концентрации биогенных элементов, индуцирующих соединений, поддержание реакции среды и температуры в нужном диапазоне положительно отражаются не только на развитии микроорганизмов, но и на их биохимической активности по очищению воды от нефти и нефтепродуктов.

3.3. Использование легкоокисляемых органических субстратов растительного происхождения для достижения биостимуляции биодеградации нефти

В качестве субстратов применяли шелуху гречихи, ячменя, кукурузы и вермикулита с размерами частиц от 0,071 до 0,5 мм. Общий вес вычислялся из расчёта от 2 до 5 мг/дм³. Количество видов бактерий, как и в предыдущих исследованиях, соответствовало монокультуре, трем культурам и консорциуму, состоящему из девяти родов УОМ.

При определении оптимального размера органического субстрата были поставлены следующие варианты опытов: 1. Вода + субстрат + нефть (контроль); 2. Вода + субстрат + нефть + три вида УОМ; 3. Вода + субстрат + нефть + девять видов УОМ.

Экспериментами установлено, что наилучшим субстратом является гречишная и ячменная шелуха с фракцией 0,1 мм при использовании сообщества УОМ. Именно в эксперименте с указанными субстратами быстрее увеличивалась численность микроорганизмов, соответственно возрастала степень окисления субстрата, что приводило к росту количества осуществляемых ферментативных реакций, следовательно, к наиболее эффективной деструкции нефти и составило 70,1 и 55% соответственно.

Динамика БПК₅, ХПК и других химических показателей выявила, что во всех вариантах опыта происходит их уменьшение, а в частности ХПК от 5% в

контрольном варианте при использовании гречихи до 65% под действием консорциума УОМ, количество фосфатов уменьшается к концу эксперимента с 7,9 до 6,8 мг/дм³, аммонийный азот незначительно увеличивается от 1,35 до 8,3 мг/дм³.

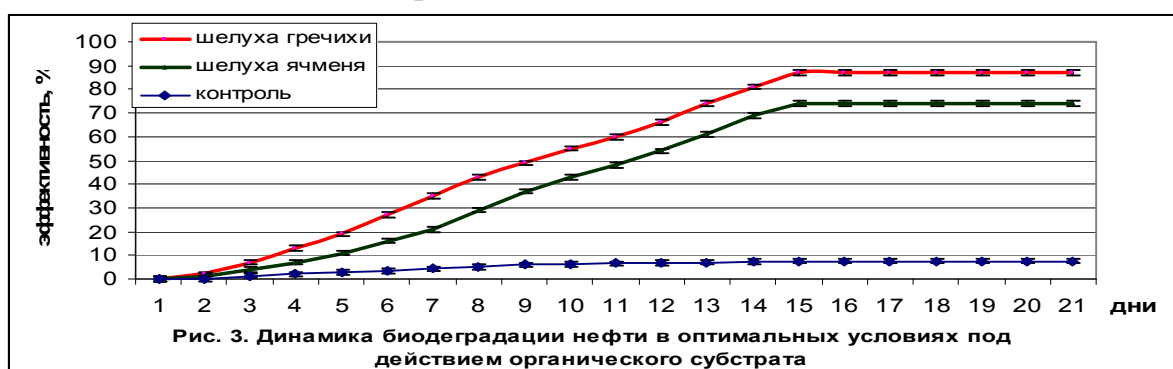
При использовании шелухи кукурузы и субстрата вермикулита мы наблюдаем, минимальный процент окисления нефти 51% и 48% при этом ХПК уменьшается на 56% и 44,8% соответственно. Это указывает на то, что данные легкоокисляемые субстраты менее используются УОМ, и в связи с этим их роль в процессе разложения нефти минимальна.

В контрольном варианте эффективность процесса деструкции нефти из-за отсутствия УОМ ещё меньше и составляет около 5%. Тот факт, что эффективность процесса биodeградации выше в опытах с фракцией субстрата 0,1 мм, чем 0,5 мм, объясняется увеличением поверхностной площади соприкосновения с нефтью и УОМ, хотя в варианте размером 0,071 мм эффективность ниже.

Таким образом, наилучшая эффективность в процессе интенсификации биodeградации нефти достигнута с применением двух субстратов, ячменной и гречишной шелухи, с фракциями 0,1 мм. Поэтому последующие опыты были проведены при использовании только данного размера частиц субстрата.

Температура окружающей среды является важным фактором, влияющим на развитие УОМ и на интенсивность окисления легкоокисляемого субстрата и нефти. При использовании гречишной шелухи и температуры 28⁰С 75% нефти окисляется на седьмой день опыта, тогда как при комнатной температуре (22-25⁰С) к указанному сроку было разложено около 70% нефти .

При сохранении оптимальной температуры и аэрации среды влияние легкоокисляемого субстрата на степень трансформации ещё выше (рис.3). Максимальная эффективность при этом составляет 87% в варианте с девятью культурами УОМ и субстратом «гречишная шелуха». Минимальный процент окисления, как и в предыдущих опытах, наблюдается в контроле без УОМ и составляет 7,6%, а также при использовании вермикулита и кукурузной шелухи, где процент окисления ниже в два раза.



Полученные положительные результаты (опыты выполнялись в колбах (1 дм³) в стационарных условиях) позволили продолжить лабораторный эксперимент с моделированием микроэкосистем с сохранением тех же параметров среды (легкоокисляемый субстрат, нефть и культуры УОМ численностью $3,45 \cdot 10^8$ кл/мл).

Модельные эксперименты подтвердили ранее полученные данные (рис.3). Максимальная эффективность биodeградации наблюдается при использовании

гречишной и ячменной шелухи в присутствии нефти и смеси культур УОМ и составляет 71% и 55% соответственно. При этом ХПК уменьшается в 3 и 2 раза от 818 до 275 с эффективностью 66,4% и от 1169 до 669 мгО₂/дм³ 43% соответственно. Это указывает на очистку стока от нефти. В эти же сроки за 18 дней эксперимента происходит незначительное увеличение количества аммонийного азота с 1,16 до 8,52 и от 5,3 до 11,95 мг/дм³ и уменьшение фосфора с 8,3 до 7,3 и с 13,9 до 7,4 мг/дм³, которое позволяет говорить о деградации нефти на более простые азотосодержащие соединения.

Таким образом, нами выбран легкоокисляемый органический субстрат растительного происхождения, служащий активатором и сорбентом для закрепления ассоциации УОМ, а главное, источником биостимуляции окисления нефти и её производных. Таким субстратом оказались «гречишная шелуха» и «ячменная шелуха» с размером фракций 0,1 мм, причем максимальная эффективность наблюдалась при использовании гречишной шелухи и составила 71%. При изменении условий среды (температура, аэрация) наблюдается увеличение степени эффективности деструкции нефти на 10 – 20%, с уменьшением времени окисления нефти на 5 суток.

3.4. Эффективность применения углеводородокисляющих микроорганизмов для очистки поверхностных вод от нефтепродуктов

В течении двух лет нами проводился мониторинг процесса естественного самоочищения воды оз. Моховое от нефтяного загрязнения (табл.3), произошедшего в результате прорыва нефтепровода с выбросом нефти.

Таблица 3

Изменение основных показателей воды в процессе естественного самоочищения о. Мохового

Показатели	Содержание, мг/дм ³								ПДК мг/дм ³
	9.04. 2007г.		08.11.2007г.		15.04.2008г.		13.11.2008г.		
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Нитраты, NO ₃ ⁻	6,2	<0.05	7,85	0,63	21,5	1,13	15,8	1,22	45
Нитриты, NO ₂ ⁻	0,2	<0.05	0,98	0,06	6,17	2,05	3,8	2,1	3,3
Азот аммонийный	14	1,1	6,78	4,06	9,71	7,11	6,64	5,64	1,5
Фосфаты, PO ₄ ³⁻	0,5	<0.05	1,02	<0.05	2,08	0,43	1,77	0,5	0,05-0,2
Сульфаты, SO ₄ ²⁻	2	2,3	6,47	4,02	6	5,34	4,5	4,19	500
Нефтепродукты	60	0,03	1,22	0,06	4,23	1,11	2,55	1,04	0,3
ХПК	895	6	112	21	421	223	234	205	15
БПК 5	125	0,6	10,1	1,6	36,5	7,3	20,3	5,1	2
БПК 15 полное	480	1	21,6	3,1	73	28,4	40,6	23	6

Примечание: 1 – озеро загрязнённое

2 – озеро близлежащее «условно чистое»

Материалы, характеризующие самоочищение воды оз. Моховое в 2007 – 2008гг, приведены в табл.3, рис.4. Как видно из таблицы и рис.4., количество нефтепродуктов в воде озера первые дни составляет 60 мг/дм³, а спустя 7 месяцев после аварии 18 мг/дм³, что превышает ПДК в 360 раз [ГН 2.1.5.1315-03; СанПиН 2.1.5.980-00]. Если сравнивать с «условно чистым» близлежащим озером (II –я

ступень), мы наблюдаем также превышение исследуемых гидрохимических показателей в несколько раз. Причина подобного связана по всей вероятности с выносом загрязнений по водоносному горизонту.



Рис.4. Динамика самоочищения о.Мохового от нефти

Повторные анализы, проведенные весной 2008 года, показали на увеличение концентрации нефти в воде озера от 1,22 до 4,23 мг/дм³ (табл.3., рис.4). Это связано с всплыванием осевшей нефти со дна и выносом её из загрязнённой территории поверхностным стоком, что увеличивает концентрацию нефтепродуктов в поверхностном слое. При рассмотрении динамики изменения основных параметров (табл.3) в летне-осенний период 2008 г выявлено, что уровень всех исследуемых показателей уменьшается, что говорит о процессе естественного самоочищения водоёма. Этому способствовало высокая температура воды и наличие богатой высшей водной растительности, что привело к повышению скорости биологической деградации нефтяных загрязнений.

Наличие в воде аммонийного азота (NH₄⁺) и его повышение в весенний период до 9,71 мг/дм³ указывает на локальное загрязнение, что характерно для данного сезона. Сезонные колебания содержания нитритов характеризуются отсутствием их зимой и появлением весной, что составляет 6,17 мг/дм³ по сравнению с условно чистым озером 2,05 мг/дм³. Осенью концентрация нитритов уменьшается и составляет 3,8 и 2,1 мг/дм³ соответственно.

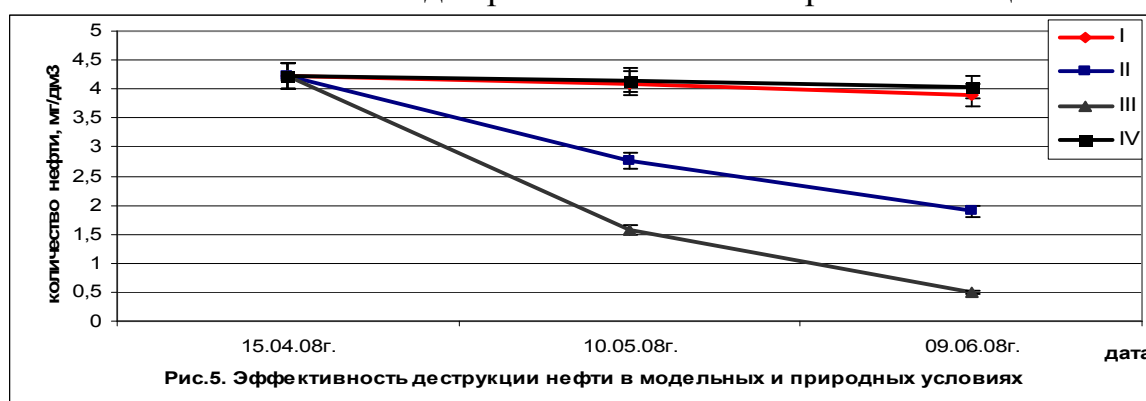
Содержание ХПК уменьшалось в течение года с 09.04.07г. по 05.04.08г. в 2 раза (с 895 до 421 мг/дм³), к концу второго года этот показатель составил 205 мг/дм³. В то же время значение БПК₅ и БПК_{полное} сократилось с 125 – 480 мг/дм³ до 36,5 и 73 мг/дм³ соответственно (табл.3). Последнее указывает на активное самоочищение воды от легкоокисляемых органических веществ. Снижение содержания сульфатов с 6 до 4,5 мг/дм³ в опытах тоже подтверждает активность самоочищения воды в озере.

Параллельно с наблюдением процесса естественного самоочищения воды были проведены исследования в модельной экосистеме (аквариумы объёмом 50 дм³). Было выяснено, что содержание биогенных элементов в исследуемой природной воде находится в оптимальном количестве и, исходя из этого, добавляли только индуцирующие соединения в ранее установленном соотношении - 35·10⁻⁶М (табл.2).

Максимальная скорость деструкции по основным показателям наблюдается в варианте со смесью культур и индуцирующими соединениями. Под влиянием последних количество нефтепродуктов падало в 8,5 раза, а в контроле за тот же срок количества нефти и нефтепродуктов сокращалось всего в 1,1 раз. Наличие УОМ также способствует ускорению разрушения нефти в 2,2 раза.

Сравнение эффективности деструкции в модельных опытах и в природных условиях, показало, что процесс естественного самоочищения идёт медленнее за тот же период и составляет всего 4,7%, тогда как в экспериментах с внесением дополнительных источников питания и УОМ – 88,2% (рис.5).

По мере уменьшения концентрации нефтяного загрязнения происходит падение концентрации и остальных исследуемых параметров, а в частности ХПК, БПК₅ и БПК_{полное}, от 421, 36,5, 73,1 до 124, 5,2 и 9,3 соответственно, что говорит о количественных снижениях в воде органических и минеральных веществ.



Примечание: I – контроль; II – природная вода с УОМ; III – природная вода с УОМ и КО; IV- природные условия.

В целом из результатов эксперимента следует, что скорость бактериального окисления зависит от наличия микроорганизмов, источников биогенных элементов и индуцирующих соединений. Таким образом, применение активного углеводородокисляющего консорциума микроорганизмов эффективно при очищении природных нефтезагрязнённых вод.

3.5. Разработка и апробация технологии интродукции и стимуляции углеводородокисляющих микроорганизмов с целью интенсификации процессов биологической очистки сточных вод на очистных сооружениях ОАО «Казаньоргсинтез»

Наиболее эффективными техническими решениями в области очистки нефтесодержащих сточных вод являются комплексные установки, обеспечивающие оптимальные технико-экономические характеристики процесса очистки. Таким техническим решением может быть биотехнологическая схема, включающая в себя созданный нами струйно-отстойный аппарат (СОА), позволяющий провести глубокую очистку и доочистку нефтесодержащих сточных вод.

Полученные в лабораторных и модельных экспериментах данные были применены при проведении производственных испытаний биотехнологической схемы, осуществляемой в рамках договора с ОАО «Казаньоргсинтез» цехе нейтрализации и очистки промышленно – сточных вод. Новая схема очистки нефтесодержащих сточных вод включает отстой, нейтрализацию, осветление стоков в горизонтальном отстойнике 1,5-2 часа, очистку загрязнений на специальной опытной установке, представляющей собой СОА и последующее двухчасовое осветление во вторичном отстойнике (рис.6).

Объектом служили нефтесодержащие сточные воды ОАО «Казаньоргсинтез» следующего состава: ХПК 604,8 – 1858 мг/дм³, O₂ в пределах 1,5 – 6 мг/дм³, сумма

двух часов. При этом достигается освобождение стока от бактериальной взвеси (рис.7).

Сточная вода, очищенная от нефтепродуктов в СОА, поступает на биологическую очистку в аэротенки для окисления других органических соединений. Это обеспечивает непрерывный процесс биodeградации углеводородсодержащих сточных вод.

Режим очистки стока в СОА непрерывный, длительность биоокисления 0,8; 1; 1,2; 1,4; 2; 3 и 4 часа. Биомасса популяции десяти нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки сточной жидкости получена для каждого варианта опыта в условиях хемостатного культивирования в лабораторном ферментере.

На первом этапе работы нами было выявлено, что оптимальное время пребывания стока в СОА приближается к 1,2 часа, что соответствует скорости подачи сточной воды в струйно-отстойный аппарат 8 - 10 л/мин. При этом эффективность окисления нефтепродуктов составляет 40% (рис.8).

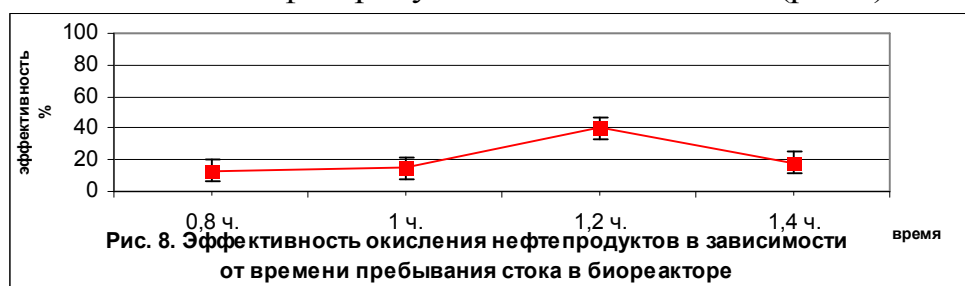


Рис. 8. Эффективность окисления нефтепродуктов в зависимости от времени пребывания стока в биореакторе

При варьировании добавляемых в сточную жидкость биогенных элементов было выявлено, что оптимальное соотношение БПК_{полное}:N:P для окисления углеводов микроорганизмами в СОА составляет 100:5:1.

Дополнительное внесение реагентов, содержащих биогенные элементы, стимулировало рост биомассы популяции микроорганизмов, что повышало эффективность изъятия загрязнений до 70% по сравнению с контролем, где эффективность окисления была равна 37%. При увеличении дозировки биогенов выше оптимального уровня наблюдалось угнетение роста популяции микроорганизмов, что соответственно снизило эффективности биоокисления до 40% (рис.9).

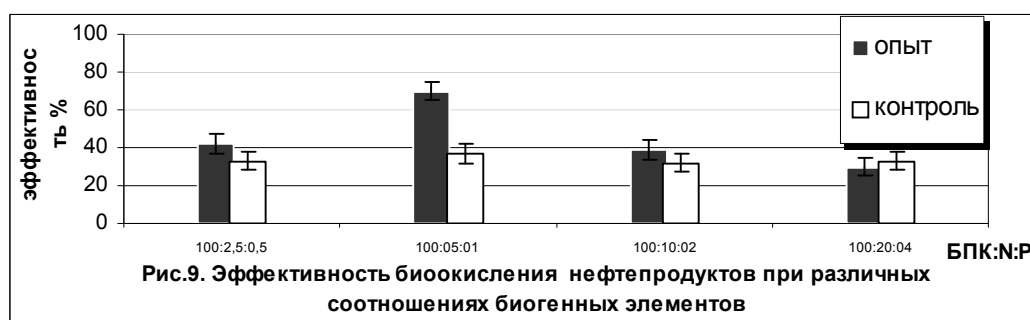


Рис.9. Эффективность биоокисления нефтепродуктов при различных соотношениях биогенных элементов

Для оценки возможности интенсификации процесса биоокисления нефтепродуктов проводились опыты с применением индуцирующих веществ. Время пребывания нефтезагрязнённой сточной воды в СОА и концентрация биогенов были оптимизированы в предыдущих опытах. Результаты эксперимента представлены на рис.10.

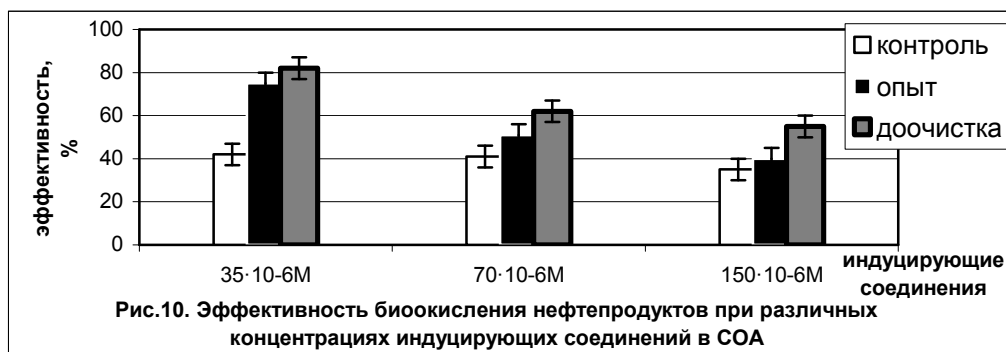


Рис.10. Эффективность биоокисления нефтепродуктов при различных концентрациях индуцирующих соединений в СОА

Было выявлено, что внесение индуцирующих соединений увеличивает количество углеводородокисляющих микроорганизмов до 376 млн. кл/см³, что повышает эффективность процесса биоокисления в СОА до 75%. В контроле в те же сроки процент окисления остаются на стабильном низком уровне и не превышают 40% .

Анализ содержания азота, нитратов, нитритов, фосфора на выходе с СОА показал, что ни в одном из вариантов опытов не происходило накопление вышеуказанных компонентов. Содержание азота и фосфора после биологической очистки уменьшается в среднем на 60 и 70% соответственно, что свидетельствует о минерализации загрязнений. В процессе отстаивания происходит дальнейшая биodeградация нефтепродуктов микроорганизмами и отделение биомассы от очищенных сточных вод, эффективность деструкции углеводов при этом повышается до 82%.

Действительно, проведённые исследования по окислению углеводов в СОА подтверждают полученные в лабораторных условиях результаты. Исследованиями было установлено, что степень и эффективность биоокисления нефтепродуктов по принятой схеме очистки зависят от концентрации углеводов в воде и времени их контакта с окисляющей микрофлорой в СОА. Это связано, с одной стороны, с доступностью нефтяного загрязнения к микробной атаке, а в конечном итоге, с возможностью использования его микроорганизмами в качестве единственного источника углерода и энергии, а с другой, с возможностью оптимизации среды для участвующих в биodeградации микроорганизмов.

В результате проведённых лабораторных и полупроизводственных исследований были установлены и подобраны основные параметры и условия хеостатного культивирования углеводородокисляющих микроорганизмов стимуляции развития биомассы бактерий в процессе окисления нефтезагрязнённых сточных вод в биореакторе с использованием биогенных элементов и биокатализирующих соединений.

В заключении хотелось бы отметить, что применение СОА позволяет улучшить очистку производственных сточных вод от нефтепродуктов на 82%, и уменьшить нагрузку на аэротенки в 5,5 раза. На выходе из СОА количество нефтепродуктов в сточной воде составляет 0,59 мг/дм³, после чего сток поступает в аэротенки и проходит дополнительную биологическую очистку с эффективностью в 95%, что позволяет очистить сток до нормы 0,16 мг/дм³. При отсутствии СОА сток напрямую поступают в аэротенки, где степень очистки составляет не более 87% (табл.4), что увеличивает нагрузку на аэротенки и уменьшает эффективность очистки.

Таблица 4

**Эффективность очистки углеводородсодержащих сточных вод ОАО
«Казаньоргсинтез» на опытной установке СОА и без неё**

Содержание нефтепродуктов в исходном стоке, после первичных отстойников	На выходе из СОА	Эффективность, %	На выходе из аэротенка после СОА	Эффективность, %
		0,59 мг/дм ³	82±2,3	0,16 мг/дм ³
	из аэротенков			
3,18 мг/дм ³	0,42 мг/дм ³	87±3		87±3

Выводы

1. Разрушение различных фракций углеводородов нефти протекает за счёт биологического окисления и активности участвующих в окисление нефти УОМ и зависит от растворимости нефтепродуктов в водной среде.
2. Подобраны оптимальные условия роста и развития УОМ. Температура среды, где культивируются УОМ, оказывает значительное влияние на процесс биоремедиации нефти и нефтепродуктов, оптимальный температурный интервал для роста и развития сообществ является 23⁰С - 28⁰С. Отклонения от этой температуры, как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения, замедляют процесс деструкции. Процесс аэрации ускоряет рост численности УОМ, что отражается на эффективности деструкции углеводородов.
3. Применение биокатализирующих и индуцирующих соединений повышает интенсивность биологического окисления нефтепродуктов до 75% по сравнению с контролем, где процент окисления остается на стабильном низком уровне 40%. Использование легкоокисляемых органических субстратов (ячменная и гречишная шелуха) способствует при оптимальных условиях биостимуляции биодеградации нефти до 82-87%.
4. Впервые создана биотехнологическая схема очистки сточных вод, включающая в качестве основного струйно-отстойный аппарат, позволяющий очистить высококонцентрированные углеводородсодержащие сточные воды с эффективностью обезвреживания нефтепродуктов до 82% за 1,2 часа очистки и уменьшить нагрузку на аэротенки, а в конечном итоге, повысить эффективность очистки до 95%, что составляет по нефтепродуктам - 0,16 мг/дм³.
5. Высокая эффективность принятой биотехнологической схемы достигается при регулировании концентрации биогенов с исходной нагрузкой нефтяных загрязнений, выраженной БПК в соотношении 100:5:1, количеством индуцирующих соединений 35·10⁻⁶М. и численностью нефти и УОМ от 107 млн. кл/см³ до 162 млн. кл/см³.
6. Разработанная новая биотехнологическая схема очистки нефте - и углеводородсодержащих сточных вод позволяет очистить смешанные высококонцентрированные нефтесодержащие технологические стоки до норм сброса в основные очистные сооружения для дальнейшей очистки с целью сброса в водоём или использовать схему как доочистное сооружение в подготовки стока до

норм оборотного водоснабжения и отвода в водные объекты без ущерба их экологического состояния.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Сидоров А.В.**, Хуснетдинова Л.З., Морозов Н.В. Исследование окисления различных классов углеводородов нефти гетеротрофными микроорганизмами // Экологические проблемы города Казани и прилегающих территорий. Сб. научн. тр. Казань – 2005. - С. 28-32.
2. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Оптимизация процессов очистки нефтесодержащих сточных вод ОАО «Казаньоргсинтез» на струйно-отстойном аппарате (СОА) аборигенными углеводородокисляющими микроорганизмами // Ресурсосберегающие, водо – и почвоохранные биотехнологии, основанные на использовании живых экосистем. Мат. всеросс. конф. - Казань – 2006. - С. 226-234.
3. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Биodeградация углеводородов нефти и нефтепродуктов отселектированными углеводородокисляющими микроорганизмами // Фундаментальные исследования. – 2007. - №11. – С. 74 – 75.
4. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Аборигенные углеводородокисляющие микроорганизмы в биоремедиации водных ресурсов от нефтяного загрязнения // Современные наукоёмкие технологии. – 2007. - №1. – С. 63-64.
5. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Биологическая очистка и доочистка углеводородсодержащих сточных вод ОАО «Казаньоргсинтез» на пилотной установке. Изучение влияния различных биогенных элементов и биокатализирующих соединений на эффективность процессов биоокисления // Сотрудничество для решения проблемы отходов. Матер. межд. конф. – Харьков, Украина. – 2007. – С. 253 – 258.
6. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Имобилизация углеводородокисляющих микроорганизмов на органических субстратах с целью создания селективных биопрепаратов для интенсификации биodeградации нефтяных загрязнений при их локальном и аварийном поступлении // Экологические проблемы урбанизированных территорий. Мат. научно – практ. конф. – Елец – 2007. – С.142-144.
7. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В., Гицарева Е.В. Биodeградация нефтесодержащих природных и сточных вод консорциумом углеводородокисляющих микроорганизмов // Пятый международный конгресс по управлению отходами и природоохранным технологиям ВэйсТек – 2007. Москва – 2007. – С. 341-342.
8. Морозов Н.В., **Сидоров А.В.** Биodeградация нефтяных загрязнений в технологических стоках // Экология и промышленность России, июль, - 2007. – С. 4-7.
9. Морозов Н.В., **Сидоров А.В.** Нефтяное загрязнение в поверхностных водах и методы их биоремедиации // Вода и Экология проблемы и решения. – 2007.- №3. – С. 31-38.
10. Жукова О.В., Лыкова Е.В., **Сидоров А.В.** Консорциум углеводородокисляющих микроорганизмов для очистки земель и вод, загрязненных нефтью // XI Туполевские чтения. Матер. межд. молод. конф. – Казань. – 2007. Том I. - С. 384-385.
11. Азимов Ю.И., **Сидоров А.В.** Информационное обеспечение экологического образования в школе и вузе //Эколого-географические исследования в Среднем Поволжье. Мат. научно - прак. конф. по изучению экологии и географии Среднего Поволжья. – Казань: ЗАО «Новое знание», 2008. – С. 80 – 83.

12. **Сидоров А.В.** Экологическое состояние водоёмов при нефтяных разливах и их последствия // Фундаментальные и прикладные исследования в системе образования. Сб. тр. Меж. конф. – Тамбов. Т.Ш. 2008. – С. 61 – 63.
13. **Сидоров А.В.** Влияние углеводородных загрязнений на компоненты экосистемы и пути их предупреждения // Экология и промышленная безопасность. – 2008. - №3. - С. 40-44.
14. Меркушин О.С., Морозов Н.В., **Сидоров А.В.** Исследование естественного самоочищения поверхностных вод о. Мохового от нефти в результате его аварийного загрязнения // Вестник ТГГПУ. – 2008. - №4. – С. 84 – 88.
15. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Управляемая биоремедиация нефтяных загрязнений в природных водоёмах и технологических сточных водах // Инновационные подходы к естественнонаучным исследованиям и образованию. Всеросс. научно-прак. конф. - Казань, 2009. – С. 271 – 282.
16. **Сидоров А.В.**, Дорофеева Е.В. Использование органического субстрата в процессе очистки водной среды от нефти // Актуальные естественнонаучные исследования, Мат. научно-исследовательских работ студентов. – Казань, 2009. - С. 92-95.
17. Меркушин О.С., **Сидоров А.В.**, Евстунин О. Антропогенное загрязнение памятника природы озеро Моховое // Актуальные естественнонаучные исследования. Мат. научно-исследовательских работ студентов. – Казань, 2009. – С. 77 – 78.
18. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Биоремедиация нефтяных загрязнений в поверхностных водах отселектированными штаммами углеводородокисляющих микроорганизмов // Мат. пятого Московского международного конгресса БИОТЕХНОЛОГИЯ: состояние и перспективы развития». – Москва, 2009. – С. 244-246.
19. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Биотехнологическая схема биodeградации углеводородсодержащих сточных вод //Пищевые технологии и биотехнологии. Сб. тезисов докладов X международная конференция молодых учёных. – Казань, 2009. – С. 358.
20. **Сидоров А.В.**, Морозов Н.В. Управляемая биоремедиация нефтяных загрязнений в природных водоемах как фактор здоровой экологии человека (на примере региона Республики Татарстан) // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. - №6. – С. 512 – 516.
21. **Сидоров А.В.**, Иванов А.В. Управление качеством сточных вод нефтехимических предприятий // Вода: Химия и Экология. – 2009. - №6. – С. 25 – 29.