

УДК 579.26

## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕХИМИЧЕСКОГО ШЛАМА

*Е.В. Никитина, Р.П. Наумова, О.И. Якушева, А.В. Гарусов*

### Аннотация

Твердый отход нефтехимического производства – нефтешлам – является экологически опасной средой, проявляющей токсическое и мутагенное действие в отношении организмов различного уровня организации. Выраженный негативный эффект выявлен в отношении бактерий в тестах Microtox<sup>TM</sup>, Bio-Noble и Эймса, тестах на острую токсичность с парамециями и тестах с растениями. Технология биоремедиации с помощью компостирования позволила элиминировать токсичность по отношению к бактериям и одноклеточным, а также существенно снизить фитотоксичность. В результате компостирования класс опасности нефтешлама был снижен с III до IV. Отходы IV класса могут быть захоронены в почвах, отторгнутых из сельскохозяйственного природопользования, что расширяет возможности последующей утилизации.

### Введение

Нефтехимическая промышленность является источником жидких отходов, которые образуются в результате переработки нефти и нефтехимического синтеза. Эти отходы подвергаются биологической очистке [1], в результате чего образуются нефтешламы, имеющие высокое содержание нефтяных углеводородов и их производных, таких, как алканы и парафины, циклоалканы и ароматические соединения [2], многие из которых потенциально опасны. Присутствие характерных компонентов нефтешламов в объектах биосферы связано с риском как для природных экосистем в целом, так и для здоровья человека [3, 4]. В связи с этим оценка токсического действия нефтешлама – ключевой этап при размещении и обработке этих отходов. Категорию нефтесодержащих отходов можно разделить на шламы, в составе которых высока концентрация эмульгированных углеводородов (25–40%) [5–7] и относительно высоко содержание неорганических нерастворимых частиц (типа песка, глины), и отходы с общим сравнительно низким содержанием углеводородов (5–10%) и минеральных компонентов, но с повышенной долей неуглеводородных органических соединений [8, 9].

Данная работа посвящена оценке токсических эффектов нефтешламов, которая осложняется тем, что шламы имеют сложный набор компонентов. В подобных отходах невозможно определить наличие конкретных компонентов, в том числе обладающих токсическим или мутагенным потенциалом с использованием простых физико-химических методов. Нередко соединения в сложной смеси шламовых масс проявляют взаимно усиливающие или разнонаправленные эффекты [10]. Кроме оценки экологического риска, связанного со слож-

ными отходами нефтехимии, исследование токсичности необходимо для оценки эффективности их ремедиации.

Впервые нами [11] было обнаружено, что многолетняя толща шлама населена покоящимися формами микроорганизмов, обладающих способностью к возврату в активное метаболическое состояние. Наиболее перспективными для обезвреживания нефтешламов являются биотехнологии ландфарминга и компостирования. Первая из них предполагает размещение нефтешламов на почве в сочетании с агрохимической обработкой. А компостирование основано на традиционном сочетании загрязненного материала с разрыхляющим агентом. В ряде работ продемонстрированы приемы мониторинга токсичности применительно к собственно шламам и оценке процесса ремедиации [10, 12]. С учетом различной природы самих токсикологических тест-объектов, а также непосредственных мишеней для действия токсикантов, в данной работе представлены результаты токсикологического мониторинга компостирования шламов «Нижнекамскнефтехим» (НКНХ).

### 1. Постановка задачи

**Экспериментальное компостирование.** Пробы изучаемого исходного нефтешлама отбирали из шламонакопителя биологических очистных сооружений (БОС) НКНХ. Исходный нефтешлам отбирали с помощью трех вертикальных скважин на репрезентативных участках шламонакопителя. Образцы компостов нефтешлама отбирали с периодичностью 1 раза в месяц в течение первого года и 1 раза в 2 месяца в течение второго, отбор осуществляли асептически с глубины 0.2–0.5 м методом конверта, пробы усредняли и анализировали. Анализы проводили в течение 7–14 дней после отбора проб, которые хранили при 4°C.

На территории БОС в июне 1999 г. были заложены 3 компостных гряды (10×3×1.4 м). Компостирование осуществляли на бетонной площадке 15×6 м, огражденной барьером, где предусмотрены фильтрование и сбор избыточной жидкости с помощью создания наклона площадки в 1° в сторону барьера. В качестве разрыхляющего агента использовали отработанный сорбент биофильтра для очистки химически загрязненного воздуха. После размещения сорбента слоем 0.3 м шлам распределяли на площадке для отведения избыточной жидкости. Компостируемые смеси формировали методом послойной укладки без перемешивания. Соотношение шлама к наполнителю биофильтра составляло 1:1 (по объему). Минеральные удобрения вносили в виде нитроаммофоски (250 г/м<sup>3</sup>). В начале компостирования провели увлажнение гряд до 60% влажности. Продолжительность компостирования составила два вегетационных сезона.

**Определение нефтяных углеводородов** основано на экстракции хлороформом в аппарате Сокслета в течение 3 ч с последующим анализом методом ИК-спектроскопии [13].

**Летучие компоненты нефтешлама** определяли по методу, основанному на их конденсации и сборе в ловушке летучих нефтепродуктов с последующей газовой хроматографией [13].

Сумму **гуминовых и фульвовых** кислот определяли по [14].

**Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ)** определяли с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии. Сухой остаток хлороформного экстракта перерастворяли в ацетонитриле, фильтровали и анализировали на хроматографе серии LC (Чехия) в обращенно-фазовом варианте; колонка – 250 мм × 4 мм с сепарином SGX18; элюент – ацетонитрил/вода (70:30), детектор – УФ,  $\lambda=254$  нм. Использовали стандартные образцы – нафталин, флуорен, фенантрен, антрацен, флуорантен, пирен, хризен, бензо(а)пирен («Экрос», Россия).

В тестировании **токсичности** испытывали непосредственно нефтешлам, компосты и/или их экстракты. **Водный экстракт** готовили из расчета 1 часть воздушно-сухого шлама (компоста) и 2 части стерильной водопроводной воды. Экстракцию проводили 1 ч при перемешивании, затем центрифугировали (10 мин., 4000 x g), экстракт фильтровали через мембранный фильтр (0.22 мкм), подвергали тестированию. **Для органического экстракта** 1 г шлама смешивали с 10 мл диэтилового эфира, экстрагировали в течение 1 ч. Экстракт отстаивали, фильтровали, выпаривали. Осадок перерастворяли в 10 мл ДМСО и анализировали.

Испытание влияния твердой фазы нефтешлама на люминесцентные бактерии *Vibrio fischeri* проводили в системе Microtox<sup>TM</sup> по [15] и методом быстрого тестирования Bio-Nobile [16].

**Полуколичественный метод учета генных мутаций (тест Эймса).** Анализ осуществляли в соответствии с [17] на штаммах *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100. **Влияние водного экстракта** шлама на рост *Pseudomonas putida* определяли по ISO 10712 [18]. **Острую токсичность водной вытяжки в тесте с инфузориями *Paramecium caudatum*** оценивали по методике, описанной ранее [19]. **Фитотоксичность** определяли на растениях – редисе (*Raphanus sativus radiculata*) – класса двудольных и пшенице (*Triticum aestivum*) – класса однодольных [20].

**Статистическую обработку** проводили с помощью программного пакета Excel, все статистические анализы проведены с  $P \leq 0.05$ .

## 2. Результаты исследований и обсуждение

**Химическая характеристика шлама и компостов.** Нефтехимический шлам является отходом с высоким содержанием углеводов нефти, в том числе легколетучих и ПАУ (табл. 1). В большинстве случаев концентрации компонентов нефтешлама НКНХ находятся в пределах, указанных международной нормативной документацией ЕРА для шламов нефтеперерабатывающих комплексов [21].

Компостирование привело к снижению общего количества углеводов нефти на 87%. Остаточная концентрация легколетучих углеводов составила 0.37% от начального содержания. Количество анализируемых ПАУ в процессе компостирования снизилось на 99%. Остаточная концентрация ПАУ с 2–4 ароматическими кольцами варьировалась в диапазоне 0.001–0.17% от начального уровня, а содержание бензо(а)пирена (5 бензольных колец) в конце эксперимента – 12.27%.

Табл. 1

Химическая характеристика исходного нефтешлама и прошедшего компостирования  
(значение  $\pm$  стандартное отклонение)

	Измеряемый параметр	Необработанный шлам	Обработанный шлам
1	Концентрация нефтяных углеводородов, г/кг	152.2 $\pm$ 5.3	19.3 $\pm$ 2.5
2	$\Sigma$ 8 испыт. ПАУ, мг/кг	5117.9 $\pm$ 2358.5	5.61 $\pm$ 1.41
	Нафталин	210.9 $\pm$ 5.6	0.35 $\pm$ 0.09
	Флуорен	349.6 $\pm$ 7.6	0.05 $\pm$ 0.01
	Фенантрен	712.4 $\pm$ 23.0	0.45 $\pm$ 0.06
	Антрацен	162.1 $\pm$ 12.9	0.13 $\pm$ 0.02
	Флуорантен	2923.3 $\pm$ 86.9	0.05 $\pm$ 0.01
	Пирен	427.9 $\pm$ 56.3	0.22 $\pm$ 0.09
	Хризен	296.9 $\pm$ 32.2	0.09 $\pm$ 0.03
	Бензо(а)пирен	34.8 $\pm$ 11.3	4.27 $\pm$ 1.1
3	Летучие углеводороды, мг/кг	24.2 $\pm$ 2.9	0.09 $\pm$ 0.02
	толуол	0.8 $\pm$ 0.092	Н/Д*
	диметилциклогексан	0.6 $\pm$ 0.120	Н/Д
	этилбензол	0.152 $\pm$ 0.086	Н/Д
	мета-, пара-ксилолы	0.22 $\pm$ 0.101	Н/Д
	стирол	0.160 $\pm$ 0.026	Н/Д
	о-ксилол	0.150 $\pm$ 0.020	Н/Д
	изопропилбензол	0.220 $\pm$ 0.079	Н/Д
	ЦОД+циклооктан	0.250 $\pm$ 0.056	Н/Д
	пропилбензол	0.230 $\pm$ 0.102	Н/Д
	три-метилбензол	0.770 $\pm$ 0.08	Н/Д
	$\alpha$ -метилстирол	0.300 $\pm$ 0.056	Н/Д
	$\beta$ -метилстирол	0.390 $\pm$ 0.102	Н/Д
	ДИЦПД+изопропилбензол	0.711 $\pm$ 0.098	Н/Д
	инден	0.413 $\pm$ 0.086	0.09 $\pm$ 0.02
4	Сумма гуминовых и фульвовых кислот, г/кг	16.7 $\pm$ 0.9	34.1 $\pm$ 4.2

\*Н/Д – ниже уровня детектирования.

В процессе компостирования с уменьшением концентрации загрязнения произошло увеличение суммарного содержания фульвовых и гуминовых кислот (табл. 1). Что косвенно свидетельствует о возможности включения, и, соответственно, снижении подвижности, остаточных фракций загрязнения в гумусоподобный матрикс.

**Токсичность исходного нефтешлама и компостов.** Анализ токсичности с использованием *V. fischeri* в быстром тесте Bio-Noble (интенсивность биолюминесценции регистрируется через 30 с), позволяющем оценивать общую токсичность среды в твердой фазе, показал, что исходный нефтешлам токсичен (коэффициент ниже 1), но в процессе обработки в компостных грядах был достигнут нетоксичный уровень (табл. 2). У незагрязненной почвы, использованной в качестве контроля, коэффициент 1.07. Уровень токсичности твердой фазы нефтешлама, оцененный с помощью *V. fischeri* в тесте Microtox, был в 33 раза выше,

Табл. 2  
Экотоксикологическая характеристика исходного нефтешлама и продукта его компостирования (значение  $\pm$  стандартное отклонение)

Метод тестирования		Оценка токсичности и мутагенности	
		Исходный шлам	Компост
1	Био-Noble flash токсичность твердой фазы (отношение к контролю)	0.46 $\pm$ 0.02 (токсичен)	1.15 $\pm$ 0.01 (нетоксичен)
2	Microtox® токсичность твердой фазы (относительная токсичность)	33 $\pm$ 1 (токсичен)	1 $\pm$ 0.1 (нетоксичен)
3	Рост бактерии <i>P. putida</i> (водный экстаркт) (отношение к контролю)	-22.6 $\pm$ 1.32 (нетоксичен)	-7.8 $\pm$ 0.5 (нетоксичен)
4	Мутагенность <i>S. typhimurium</i> TA98 (число ревертантов по отношению к контролю) Водный экстракт - S9	2.7 $\pm$ 0.5 (немутагенен)	1.1 $\pm$ 0.5 (немутагенен)
		+ S9	9.7 $\pm$ 0.9 (мутагенен)
	Органический экстракт -S9	2.8 $\pm$ 0.7 (немутагенен)	1.2 $\pm$ 0.3 (немутагенен)
		+S9	7.3 $\pm$ 0.6 (мутагенен)
Мутагенность <i>S. typhimurium</i> TA100 (число ревертантов по отношению к контролю) Водный экстракт - S9	- S9	5.1 $\pm$ 0.1 (мутагенен)	0.9 $\pm$ 0.2 (немутагенен)
		+ S9	11.8 $\pm$ 2.1 (мутагенен)
	Органический экстракт - S9	3.1 $\pm$ 0.8 (немутагенен)	1.2 $\pm$ 0.4 (немутагенен)
		+ S9	5.9 $\pm$ 0.9 (мутагенен)
5	Одноклеточные <i>P. caudatum</i> , (водный экстракт) (% от контроля)	63.3 $\pm$ 5.9 (токсичен)	0 $\pm$ 0 (нетоксичен)
6	Фитотоксичность (% от контроля)		
	Твердая фаза: Редис	98.7 $\pm$ 2.3 (токсичен)	8 $\pm$ 1.3 (нетоксичен)
	Пшеница	98 $\pm$ 2.0 (токсичен)	12 $\pm$ 2.1 (нетоксичен)
	Водный экстракт: Редис	25 $\pm$ 3.8 (токсичен)	-10 $\pm$ 2.5 (нетоксичен)
	Пшеница	45 $\pm$ 5.4 (токсичен)	-5 $\pm$ 2.3 (нетоксичен)

чем незагрязненная почва. Двухлетнее компостирование привело к полной элиминации токсического эффекта в данном тесте (табл. 2). Увеличение времени контакта до 30 мин. (стандартное – 15 мин.) не приводило к значительному изменению токсического ответа, соответственно, токсический эффект является следствием присутствия органических химических токсикантов, а не тяжелых металлов.

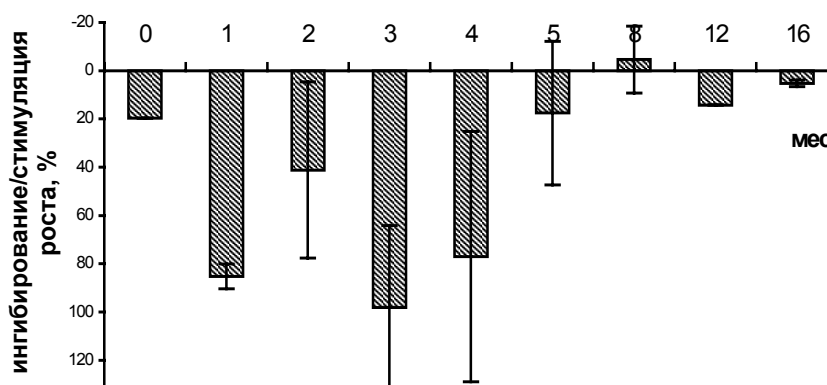


Рис. 1. Изменение влияния водного экстракта на рост *P. putida* в тесте ISO 10712 (1995)

Результаты оценки токсичности с помощью биолюминесценции (Microtox® и Bio-Noble) согласуются с химическим анализом, демонстрирующим уменьшение концентрации загрязняющих веществ в результате обработки нефтешлама с использованием биологической технологии.

В тесте ISO 10712 водорастворимые компоненты исходного шлама стимулировали рост бактерии *P. putida* на 20% по сравнению с контролем (рис. 1).

В течение первого года ремедиации выявлено пятикратное повышение уровня положительного влияния на рост тест-объекта, что связано с увеличением доли доступных для псевдомонады водорастворимых метаболитов – продуктов деструкции загрязнения. В процессе компостирования концентрация водорастворимых органических веществ снизилась на 80% (данные не показаны), что нашло отражение в снижении уровня стимуляции роста тест-объекта. Рост *P. putida* под воздействием водных экстрактов является следствием высокого содержания доступного органического питания и нечувствительности тест-объекта к токсикантам. Стимуляция роста *P. putida* не коррелировала с изменением концентрации загрязнителей, что согласуется с аналогичными результатами [12].

В составе нефтешлама присутствуют соединения, известные своими мутагенными и канцерогенными свойствами, в частности ПАУ. Оценка мутагенного потенциала органо- и водорастворимых компонентов в классическом тесте Эймса показала, что водный и органический экстракт повышали частоту мутаций по сравнению со спонтанным уровнем (табл. 2).

Острая токсичность водных экстрактов шлама в тесте на инфузории *P. caudatum* отражает совокупный эффект водорастворимых токсикантов. Смертность тест-объекта в водном экстракте исходного шлама была выше 50% (табл. 2). В процессе ремедиации в этом тесте выявлено повышение токсичности вначале (рис. 2), с последующей тенденцией к снижению токсичности и полному ее элиминированию.

Различалось действие нефтешлама и его водных экстрактов на тест-объекты в анализе на фитотоксичность (табл. 2). Очевидно, что наиболее сильное отрицательное влияние на растения оказывали водонерастворимые компонен-

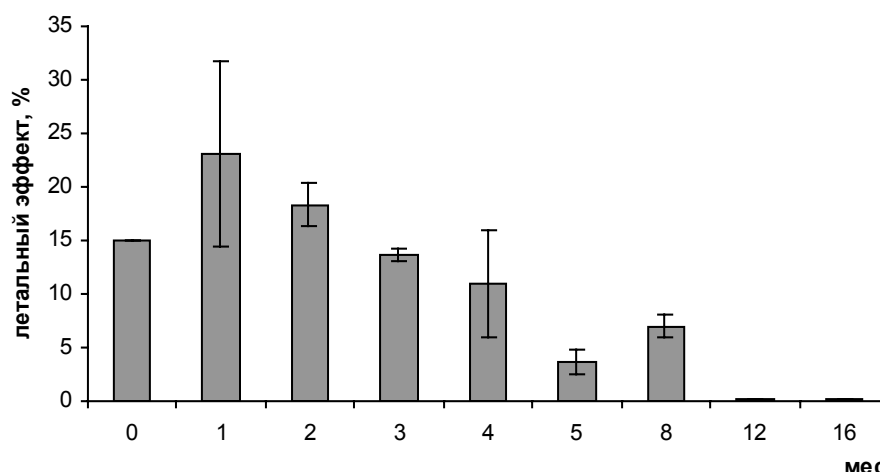


Рис. 2. Изменение острой токсичности на *P. caudatum* в процессе компостирования нефтешлама

ты нефтешлама. В процессе ремедиации фитотоксичность компостов имела колебательный характер, а к пятому месяцу от начала эксперимента проявлялась стойкая тенденция к ее уменьшению (рис. 3).

В период интенсивного разложения органических загрязнений (начало испытаний) токсическое действие водного экстракта на растения увеличивалось. Аналогичное повышение токсичности обнаружено при ремедиации шламов нефтедобывающей [5] и нефтеперерабатывающей промышленностей [12], что может быть результатом неполной деградации загрязнений и формирования токсичных промежуточных метаболитов [22]. Некоторый рост фитотоксичности в период 8–16 месяцев, видимо, является следствием вовлечения в метаболизм микробного сообщества труднодоступных компонентов и перехода их метаболитов в водную фазу.

В настоящее время в Российской Федерации существуют две системы оценки класса опасности отходов. Оценка опасности расчетным методом по химическим характеристикам с помощью программного пакета «Определение класса опасности отходов. Справочник отходов» [23] показала, что нефтешламы НКНХ согласно законодательному акту № 511 от 2001 г. [24] принадлежат к IV КО, а от 1987 г. – к III классу [25]. Подобные разночтения вызваны тем, что при оценке учитываются индивидуальные химические соединения. В российском законодательстве зачастую нет ПДК для многих опасных веществ, которые в свою очередь не учитываются при расчете экологической опасности. В отличие от России, в Европейском списке приоритетных загрязнителей есть нафталин, флуорантен, последний включен как индикатор опасных ПАУ, в этом списке есть ПАУ с 5 и более кольцами [26].

Расчет класса опасности нефтешлама ввиду его гетерогенности затруднен, невозможно с высокой достоверностью оценить присутствие многих химических агентов, нет учета их взаимовлияния. Вторая система расчета класса опасности основана на экспериментальном определении токсичности на орга-

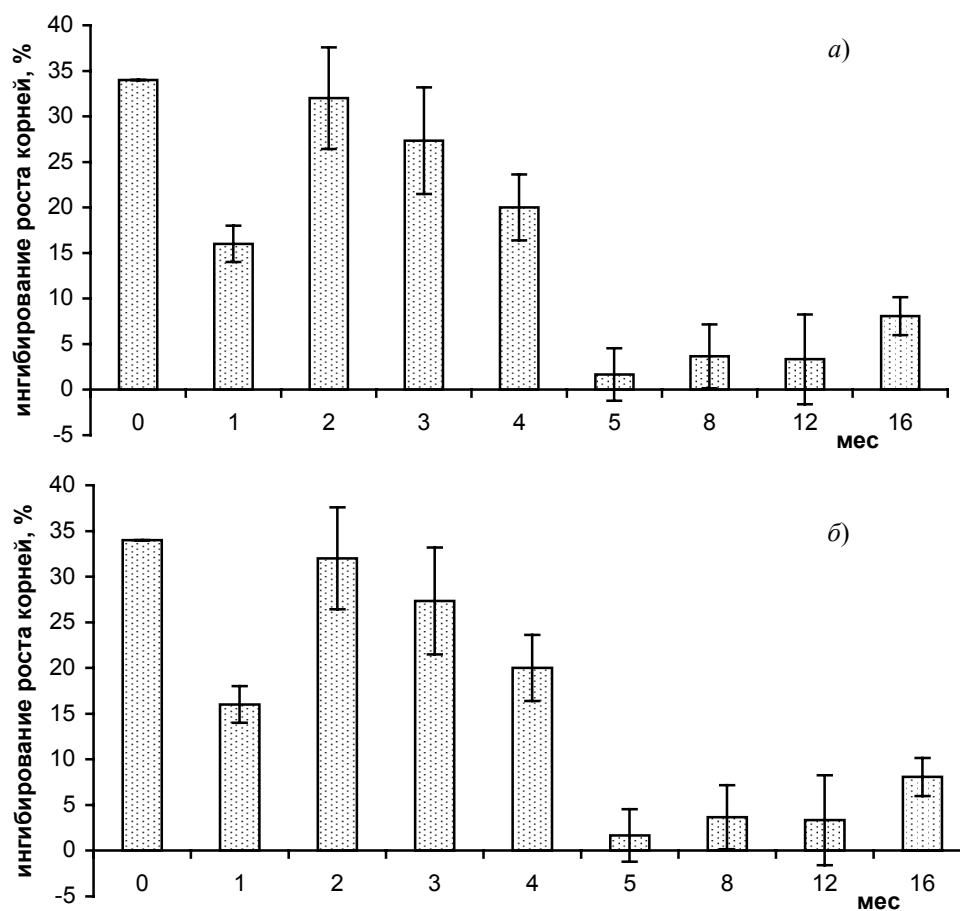


Рис. 3. Динамика фитотоксичности (тест по ингибированию роста корней) на разных растениях (*а* – пшеница, *б* – редис) в процессе компостирования

низмах разных систематических групп. Определяют кратность разбавления объекта (или его водного экстракта), достаточную для снятия токсического эффекта. Таким образом, можно получить интегральный показатель общей экологической опасности среды.

Токсикологический мониторинг свидетельствует, что класс опасности исходного нефтешлама – III, для достижения нетоксичного уровня шлам необходимо разбавить в 101–1000 раз. В третий класс опасности включают отходы, содержащие сырую нефть, шламы нефтеотделительных установок, водные смеси нефтепродуктов, земли, загрязненные нефтепродуктами.

Компостирование привело 95%-ному элиминированию нефтехимического загрязнения, подвижность остаточного загрязнения мала, о чем свидетельствует отсутствие токсических эффектов. После ремедиации КО шлама снизился до IV, т. е. компост необходимо разбавить менее чем в 100 раз для устранения вредного воздействия. Отходы IV класса могут быть захоронены в почвах, оторгнутых из сельскохозяйственного природопользования, что расширяет воз-



возможности последующей утилизации. Токсико-химический мониторинг показал высокую эффективность применения компостирования для обезвреживания нефтешламов.

Работа поддержана Комиссией Европейских Сообществ (грант ICA2-СТ-2000-10006) и Фондом НИОКР Республики Татарстан (проект № 09-9.7-171/2003–2005).

### Summary

*E.V. Nikitina, R.P. Naumova, O.I. Yakusheva, A.V. Garusov.* Toxicological aspects of the petrochemical sludge bioremediation.

Oily sludge is the ecological hazardous solid waste of petrochemical production. Sludge components effected toxic and mutagenic properties to relate organisms of different level of organization. High negative effect of initial petrochemical sludge was show in test with bacteria (Microtox<sup>TM</sup>, Bio-Noble and Ames), test with paramecium (acute toxicity) and phytotoxicity. Biotechnology of composting of sludge has resulted to the reduction of toxicity to relate the simplest organisms and plants. Category of hazardous of petrochemical sludge reduced from III to IV after bioremediation. Waste of IV rank can store in soil excepted from agricultural usage, which extends possibility of subsequent utilization.

### Литература

1. *Якушева О.И., Наумова Р.П.* Биотехнология очистки сточных вод нефтехимического комплекса // Био- и медицинские проблемы окружающей среды Республики Татарстан / Под ред. Л.Х. Гордона, В.А. Бойко. – Казань: Экоцентр, 1998. – Т. 1. – С. 168–188.
2. *Marin J.A., Hernandez T., Garcia C.* Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity // *Environ. Res.* – 2005.
3. *Propst T.L., Lochmiller R.L., Qualls C.W., McBee K.* In situ (mesocosm) assessment of immunotoxicity risks to small mammals inhabiting petrochemical waste sites // *Chemosphere.* – 1999. – V. 38, No 5. – P. 1049–1067.
4. *Hejazi R.F., Husain T., Khan F.I.* Landfarming operation of oily sludge in arid region – human health risk assessment // *J. Hazard. Materials.* – 2003. – V. 99, No 2. – P. 287–302.
5. *Aprill W., Sims R.C., Sims J.L., Matthews J.E.* Assessing detoxification and degradation of wood preserving and petroleum wastes in contaminated soil // *Waste Manag. Res.* – 1990. – V. 8. – P. 45–65.
6. *Kirchmann H., Ewnetu W.* Biodegradation of petroleum-based oil wastes through composting // *Biodegradation.* – 1998. – V. 9, No 2. – P. 151–156.
7. *Vasudevan N., Rajaram P.* Bioremediation of oil sludge-contamination soil // *Environ. Internat.* – 2001. – V. 26. – P. 409–411.
8. *Bartha R., Bossert I.* The treatment and disposal of petroleum waste // *Petroleum microbiology / R.M. Atlas (ed.)* – N. Y.: Macmillian, 1984. – P. 553–577.
9. *Saikia N.J., Segupta P., Gogoi P.K., Borthakur P.C.* Physico-chemical and cementations properties of sludge from oil field effluent treatment plant // *Cement Concrete Res.* – 2001. – V. 31. – P. 1221–1225.
10. *Morelli I.S., Vecchioli G.I., Del Panno M.T., Garre M.I., Costanza O.R., Pinceira M.T.* Assessment of the toxic potential of hydrocarbon containing sludges // *Environ. Pollut.* – 1994. – V. 89, No 2. – P. 131–135.

11. Никитина Е.В., Якушева О.И., Гарусов А.В., Зарипов С.А. Наумова Р.П. Особенности распределения и физиологического состояния микроорганизмов нефтешлама – отхода нефтехимического производства // Микробиол. – 2003. – Т. 72, № 5. – С. 699–706.
12. Juvonen R., Martikainen E., Schultz E., Joutti A., Ahtianen J., Lehtokari M. A battery of toxicity tests as indicators of decontamination in composting oily waste // Ecotoxicol. Environ. Safety. – 2000. – V. 47. – P. 156–166.
13. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. – М.: Химия, 1984. – 447 с.
14. Pfortner P., Weller MG., Niessner R. Immunological method for the detection of nitro-aromatic residues covalently bound to humic acids // Fresenius. J. Bioanal. Chem. – 1998. – V. 360. – P. 192–198.
15. Symons B.D., Sims R.C. Assessing detoxification of a complex hazardous waste, using the Microtox™ bioassay // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1988. – V. 17. – P. 497–505.
16. Lappalainen J., Juvonen R., Vaajasaari K., Karp M. A new flash method for measuring the toxicity of solid and colored samples // Chemosphere. – 1999. – V. 38, No 5. – P. 1069–1083.
17. Maron D.M., Ames B.N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test // Mutation. Res. – 1983. – V. 94. – P. 315–330.
18. ISO/DIS 10712: Water quality – *Pseudomonas* cell multiplication inhibition test. – 1995.
19. Selivanovskaya S.Y., Petrov A.M., Egorova K.V., Naumova R.P. Protozoan and metazoan communities treating a simulated petrochemical industry wastewater in a rotating disc biological reactor // World J. Microbiol. Biotechnol. – 1997. – V. 13, No 5. – P. 511–517.
20. ISO 11269-1. Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 1: Methods for the measurement of inhibition of root growth. – 1993.
21. US EPA Study of selected petroleum refining residuals industry study. // Office of Solid Waste. Hazardous Waste Identification Division. 401 M Street, SW. Washington, DC 20460. – 1996.
22. Phillips T.M., Liu D., Seech A.G., Lee H., Trevors J.T. Monitoring bioremediation in creosote-contaminated soils using chemical analysis and toxicity tests // J. Indust. Microbiol. Biotechnol. – 2000. – V. 24. – P. 132–139.
23. НПП «ЛОГУС», программа «Определение класса опасности отходов. Справочник отходов» // Сертификат «Системы добровольной сертификации объектов ресурсопользования в Российской Федерации», МПР РФ. Рег. № МПР СРС.RU.51.0002.000003 от 15.03.02.
24. Об утверждении Критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды // Приказ Министра природных ресурсов Российской Федерации № 511, 15.06.2001.
25. Методические рекомендации по определению класса токсичности промышленных отходов. – М., 1987.
26. Decision N 2455/2001/EC of the European Parliament and of the council // 20 November 2001 establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC.

Поступила в редакцию  
19.06.05

---

**Никитина Елена Владимировна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник НИЛ экологической биотехнологии и биомониторинга Казанского государственного университета.

E-mail: [elenik@mail.ru](mailto:elenik@mail.ru)

**Наумова Римма Павловна** – доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии Казанского государственного университета.

E-mail: *nrp.ksu.ru*

**Якушева Ольга Ивановна** – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией сточных вод ОАО «Нижнекамскнефтехим».

E-mail: *YakushevaOI@nknh.ru*

**Гарусов Александр Васильевич** – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник НИЛ экологической биотехнологии и биомониторинга Казанского государственного университета.

E-mail: *Aleksander.Garusov@ksu.ru*