

# ПИЛОТНЫЕ ИСПЫТАНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА УТИЛИЗАЦИИ ОТРАБОТАННЫХ НЕФТЯНЫХ МАСЕЛ

**Д.А. Филатов, В.С. Овсянникова, К.А. Шаршов, В.А. Забелин, Д.И. Чуйкина**

**Институт химии нефти СО РАН, г. Томск, ЗАО "Биоойл", г. Новосибирск**



Проведены пилотные испытания микробиологического метода утилизации отработанных нефтяных масел (ОМ) ранее разработанным консорциумом углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ): *Aquamicrobium lusatiense* штамм 854/1 (AM884147), *Pseudomonas aeruginosa* штамм HNYM10 (JN999888), *Paracoccus aminophilus* штамм ATCC 49673 (NR\_042715), *Gordonia hydrophobica* strain DSM 44015 (NR\_026254), *Bacillus pumilus* strain ATCC 7061 (NR\_043242). При культивировании в проточных условиях на жидкой минеральной среде с отработанным маслом их численность возрастала с  $1,5-2 \cdot 10^4$  КОЕ/мл до  $5-6 \cdot 10^9$  КОЕ/мл, что сопровождалось значительным ростом их ферментативной активности. Эффективность биодеструкции масла при его исходной концентрации 25 и 50 % по массе составила 93–94 % за 60 сут. Все углеводороды в составе масла в той или иной степени подверглись микробиологическому окислению, и, в зависимости от строения, степень их утилизации составила 82–100 %.

*Ключевые слова:* биохимическое окисление, ассоциация углеводородокисляющих микроорганизмов, ферменты, отработанное масло

## Pilot Testing of a Microbiological Method for Disposal of Spent Hydrocarbon Oils

**D.A. Filatov, V.S. Ovsyannikova, K.A. Sharshov, V.A. Zabelin, D.I. Chuikina**

**Institute of Petroleum Chemistry, Siberian Branch of the RAS, 634021 Tomsk, Russia, CJSC Biooil, 630091 Novosibirsk, Russia**

Pilot testing of a microbiological method for disposal of spent hydrocarbon oils (HO) by a previously developed consortium of hydrocarbon oxidizing microorganisms (HOM): *Aquamicrobium lusatiense* strain 854/1 (AM884147); *Pseudomonas aeruginosa* strain HNYM10 (JN 999888), *Paracoccus aminophilus* strain ATCC 7061 (NR\_043242), *Gordonia hydrophobica* strain DSM44015 (NR\_926254), *Bacillus pumilus* strain ATCC 7061 (NR\_043242). When cultivated under flow conditions in liquid mineral medium with spent oil, their population increased from  $1,5-2 \cdot 10^4$  CFU/ml to  $5-6 \cdot 10^9$  CFU/ml, which was accompanied by a significant increase in their enzymatic activity. The effectiveness of biodegradation of oil at its initial concentration of 25 and 50 wt. % was 93–94 % during 60 days. All hydrocarbons in the composition of the oil to some extent underwent microbiological oxidation, and, depending on the structure, the degree of their disposal was 82–100 %.

*Key words:* biochemical oxidation, association of hydrocarbon-oxidizing microorganisms, enzymes, spent oil

DOI: 10.18412/1816-0395-2019-04-25-29

**Н**ефтяные масла — это жидкие смеси высококипящих (высокомолекулярных) углеводородов, главным образом алкилнафтоновых и алкилароматических, получаемые переработкой нефти. Для придания маслам необходимых свойств в них вводят специальные присадки. По назначению различают моторные, автомобильные, дизельные, авиационные, трансмиссионные, индустриальные, вакуумные и прочие масла, которые применяются в промышленности и быту

для смазки механизмов, в качестве рабочих жидкостей в различных гидросистемах, в электроэнергетике для изоляции и охлаждения электросилового оборудования и т.д.

Отработанные нефтяные масла токсичны сами по себе, кроме того, процесс их утилизации осложняется наличием присадок. На фоне ежегодного мирового потребления около 50 млн т моторных масел повторному использованию или утилизации подвергается только четверть этого объема. Остальное попада-

ет в окружающую среду: в водоемы, почву, канализацию, атмосферу, представляя опасность для здоровья человека, животного и растительного мира [1]. Всего 1 л отработанного моторного масла, попав в почву, делает непригодным от 100 до 1000 т грунтовых вод. По оценкам экологов, более 40 % поверхности воды в мире покрыто пленкой отработанных автомобильных и авиационных масел [2, 3].

Весь спектр смазочных масел, попадая в окружающую среду, лишь частично удаляется или



**Рис. 1. Внешний вид реактора**  
**Fig. 1. Appearance of the reactor**

обезвреживается в результате природных процессов самоочищения. Регенерация отработанных масел даже современными способами остается дорогостоящим процессом и в ряде случаев, особенно для смесей масел, не всегда технологически осуществима. Поэтому для утилизации отработанных масел разработано множество методов — механиче-

ских, термических, физико-химических, термохимических и биологических [4, 5, 7]. Многие из этих способов требуют использования специального оборудования, что также существенно увеличивает стоимость переработки [6].

Биологические подходы уже более 30 лет успешно используются для ликвидации нефтяных загрязнений почв и акваторий. Биологические методы утилизации в ряде случаев могут служить достойной альтернативой физико-химическим, поскольку способны приводить к полному разложению органического материала до экологически безопасных продуктов метаболизма — углекислый газ, воду, биоразлагаемую массу, обладая при этом невысокой себестоимостью [8]. Углеводороды, относясь к группе химически стойких органических веществ, разлагаются многими микроорганизмами [9].

Ранее нами было показано, что в лабораторных условиях в проточной культуре (с периодическим удалением части культуральной жидкости и заменой свежей питательной средой) биодеструкция отработанного масла подобранным консорциумом углеводородоокисляющих микроорганизмов достигла 60–69 % при его исходной концентрации 25–50 % [10]. После замены механического перемешивания культуральной среды на ее аэрацию компрессором степень утилизации масла повысилась до 92 % при тех же начальных концентрациях [11].

Цель данной работы — пилотные испытания биологического метода утилизации отработанных масел ранее разработанным консорциумом углеводородоокисляющих микроорганизмов в проточных условиях в реакторе большого объема с барботированием.

#### Экспериментальная часть

Объектом исследования была смесь отработанных масел, предоставленная Сибирским химическим комбинатом (СХК), использованная на Химико-металлургическом заводе (ХМЗ) в цехе по изготовлению и ремонту оснастки. Смесь включала в себя вакуумные масла из вакуумных и диффузионных насосов, индустриальные масла из станков металлообработки и машинные

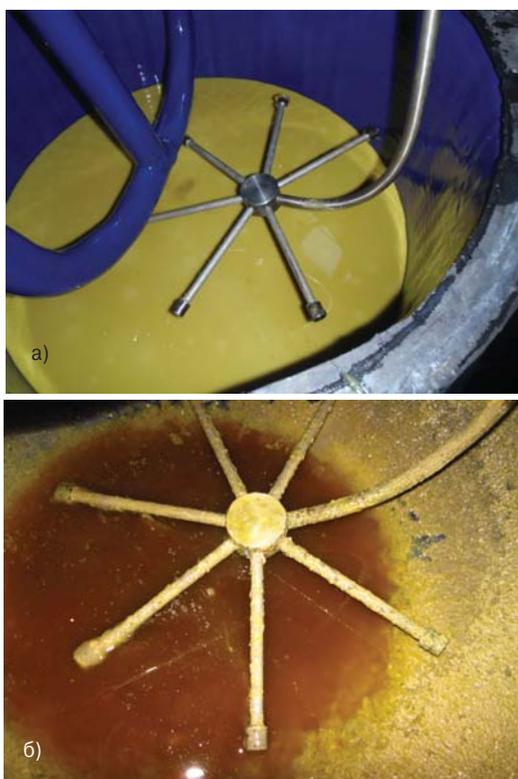
масла различных марок в неизвестной пропорции.

Консорциум углеводородоокисляющих микроорганизмов включал пять активных культур, взятых в равных соотношениях: *Aquamicrobium lusatiense*, штамм 854/1 (AM884147); *Pseudomonas aeruginosa*, штамм HNYM10 (JN999888); *Paracoccus aminophilus*, штамм ATCC 49673 (NR\_042715); *Gordonia hydrophobica*, штамм DSM 44015 (NR\_026254); *Bacillus pumilus*, штамм ATCC 7061 (NR\_043242). Идентификация штаммов до вида проводилась с помощью анализа генов, кодирующих 16S рПНК.

Пилотные испытания проводили в эмалированном химическом реакторе на 120 л с термостатируемой рубашкой и нижним сливом (рис. 1). Среда для культивирования представляла собой нестерильный раствор солей и поверхностно-активных веществ (ПАВ) на водопроводной воде следующего состава, г/л: NaCl — 2; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> — 10; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 0.7; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 0.3; неонол — 0.35; волгонат — 0.15. Отработанное масло вносили в концентрациях 25 и 50 % по массе (45 кг воды и 15 кг масла или 30 кг воды и 30 кг отработанного масла соответственно). Инокулят исследуемого консорциума ассоциации УОМ, предварительно выращенный в лабораторных условиях из чистых культур и содержащий 10<sup>7</sup> КОЕ/мл, вносили в культуральную среду в объеме 10 мл. Аэрацию и перемешивание обеспечивали барботированием воздуха через специально изготовленный разветвленный аэратор с выходными отверстиями диаметром 0,7 мм (рис. 2).

Продолжительность эксперимента составила 60 сут при температуре 25–28 °С. С периодичностью в 7 сут реактор останавливали и после часового отстаивания проводили замену 10 %-ной культуральной жидкости на свежую питательную среду. Отбор водной фазы жидкости с продуктами метаболизма проводили через нижний слив.

В течение всего опыта определяли численность микроорганизмов и ферментативную активность: численность клеток — посевом разведений культуральной среды на плотную агаровую среду с последующим подсчетом числа



**Рис. 2. Аэратор внутри реактора в начале (а) и в конце (б) опыта**

**Fig. 2. Aerator inside the reactor at the beginning (a) and at the end (b) of experience**

колоний [12]; каталазную активность — газометрическим методом по скорости распада пероксида водорода, выраженной в мл  $O_2$  на 1 мл среды за 1 мин; активность дегидрогеназы, пероксидазы и полифенолоксидазы — фотоколориметрическими методами [13].

Остаточное содержание отработанного масла в культуральной среде после эксперимента определяли весовым методом. Из всего объема культуральной жидкости проводилась хлороформенная экстракция в делительной воронке, экстракт освобождали от хлороформа на роторном испарителе и взвешивали, по разнице веса определяя степень утилизации масла [14].

Кроме того, исследовали изменение группового и индивидуального состава смеси отработанных масел методом хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС) на магнитном хроматомасс-спектрометре DFS фирмы "Thermo Scientific" (Германия) с кварцевой капиллярной хроматографической колонкой фирмы "Thermo Scientific".

Обработку результатов осуществляли с помощью статистического пакета Excel MS office 2003).

### Результаты и их обсуждение

Несмотря на проточные условия культивирования, динамика численности микрофлоры имела характер S-образной кривой (рис. 3): временной промежуток 10–11 сут может быть расценен как период адаптации, на 11–15-е сутки пришла фаза экспоненциального роста, после которой численность колебалась в пределах  $2,0\text{--}4,5\cdot 10^8$  КОЕ/мл либо  $2,0\text{--}6,0\cdot 10^8$  КОЕ/мл для вариантов с 25 и 50 % масла соответственно. Наличие нескольких максимумов численности объясняется особенностями утилизации многокомпонентного субстрата, каким является масло как смесь углеводов разного строения. Ежедневное обновление культуральной среды, избавляющее микробное сообщество от ингибирующих дальнейший рост продуктов метаболизма и поставляющее минеральные биогенные элементы (азот и фосфор), позволило поддерживать высокую численность УВ микроорганизмов в течение длительного времени — до 55–57 сут. Снижение численности в конце эксперимен-

**Таблица 1. Активность ферментов при различной продолжительности биодеструкции отработанного масла 25 и 50 % по массе**

**Table 1. The enzyme activity at different durations of biodegradation of spent oil 25 and 50 % by weight**

Исходная концентрация масла, % по массе	Ферменты			
	Каталаза, мл $O_2$ /мл	Дегидрогеназа	Пероксидаза	Полифенолоксидаза
	10 сут			
25	3,3±0,1	0,41±0,02	0,49±0,04	0,39±0,02
50	3,4±0,2	0,40±0,03	0,52±0,03	0,38±0,02
	30 сут			
25	7,6±0,3	0,58±0,04	0,63±0,01	0,49±0,01
50	7,5±0,2	0,61±0,03	0,64±0,02	0,49±0,02
	55 сут			
25	5,0±0,3	0,43±0,03	0,48±0,02	0,38±0,02
50	5,2±0,3	0,48±0,02	0,52±0,03	0,41±0,01

**Таблица 2. Остаточное содержание отработанного масла после 60 сут биодеструкции**

**Table 2. The residual content of spent oil after 60 days of biodegradation**

Исходная концентрация масла, % по массе	Масса масла, кг		Потеря массы образца, кг	Степень биодеструкции, %
	в начале опыта	в конце опыта		
25	15	0,9±0,1	14,1±0,1	94,0±0,2
50	30	2,0±0,2	28,0±0,2	93,3±0,3

та связано, возможно, с исчерпанием доступного для окисления субстрата (изменением его состава в сторону снижения доли легких насыщенных УВ и роста содержания более тяжелых и ароматических УВ) либо с недостатком биогенных элементов/ингибированием продуктами метаболизма. Эти проблемы можно решить заменой культуральной жидкости свежей средой либо в больших объемах, либо с более частой периодичностью. В случае использования современных промышленных реакторов эти процессы могут осуществляться автоматически при контроле основных параметров среды (содержания субстрата, кислорода, биогенных элементов и пр.)

К концу эксперимента отмечено изменение соотношения отдельных культур УОМ в ассоциации: доминировали *Pseudomonas aeruginosa* — 40 %, *Paracoccus aminophilus* — 30 %; на *Aquamicrobium lusatiense*, *Gordonia hydrophobica* и *Bacillus pumilus* приходилось приблизительно по 10 %.

Кроме численности микрофлоры для оценки интенсивности биодеструкции может быть использована ферментативная активность микробной популяции. Ведущую роль в биодеструкции играют окислительно-восстановительные ферментативные реакции,

катализируемые широким спектром оксидоредуктаз [15]. Одним из показателей интенсивности процессов может служить оценка каталазной активности, играющей немаловажную роль в кислородном обмене. Такие ферменты, как дегидрогеназы осуществляют введение одного атома кислорода из его молекулярной формы в концевую метильную группу углеводорода и отвечают в основном за окисление алифатических цепочек. А особенность механизма действия пероксидазы и полифенолоксидазы — это отсутствие специфичности по отношению к субстрату, поэтому они катализируют окисление практически любых ароматических и гетероциклических соединений, входящих в состав отработанных масел и принадлежащих к числу наиболее опасных загрязнителей окружающей среды.

Уже с первых суток эксперимента отмечено увеличение активности всех исследованных ферментов, что свидетельствует об интенсивных процессах биодеструкции химических соединений разной структуры, входящих в состав отработанного масла (табл. 1). На протяжении всего эксперимента для двух вариантов опыта (с 25 и 50 % по массе масла) отмечалась высокая активность исследуемых ферментов, снижение ее началось

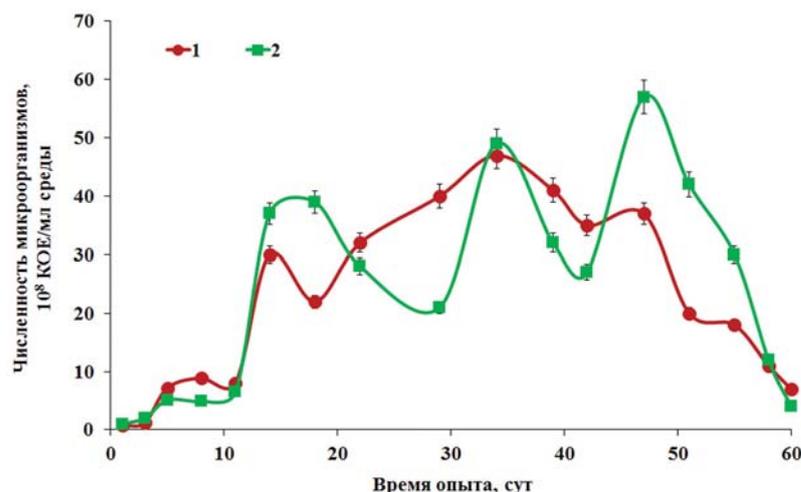


Рис. 3. Динамика численности ассоциации УОМ при биодеструкции отработанного масла в 25 %-ной (1) и 50 %-ной (2) концентрациях

Fig. 3. The dynamics of the number of association NOM with the biodegradation of spent oil in 25 % (1) and 50 % (2) concentrations

Таблица 3. Содержания углеводородов (УВ) разного строения при биодеструкции смеси отработанных масел (по данным ГХ-МС)

Table 3. Changes in the content of hydrocarbons (HC) of different structure during biodegradation of a mixture of spent oils (according to GC-MS)

УВ	Концентрация вещества в масле, мкг/г			Степень биодеструкции, %
	исходном	биодegradированном, %		
Алканы	215,6	0,2	0,3	99,8
Сумма C11–C19	89,3	0,0	0,0	100,0
Сумма C20–C23	83,2	0,0	0,0	100,0
Сумма C24–C29	41,1	0,9	0,8	97,7–98,0
Циклогексаны	119,8	2,3	2,9	98,0–97,5
Метилциклогексаны	37,8	1,1	0,9	97,1–97,3
Алкилбензолы	9,9	1,1	0,9	89,1–90,1
Метилалкилбензолы	11,3	0,9	0,8	92,2–93,2
Нафталин	2,8	0,4	0,5	83,6–82,1
Сумма метилнафталинов	8,5	0,7	1,5	91,7–82,3
Сумма диметилнафталинов	28,3	2,5	2,9	91,1–89,7
Сумма триметилнафталинов	44,4	7,9	7,8	82,2–82,4
Сумма тетраметилнафталинов	32,5	3,6	4,1	88,9–87,3
Фенантрен	37,9	2,4	2,7	93,6–92,8
Сумма метилфенантронов	58,3	9,7	10,1	83,3–82,6
Сумма диметилфенантронов	37,8	6,7	6,5	82,2–82,8
Сумма триметилфенантронов	24,7	4,3	4,4	82,6–82,2
Флуорантен	9,6	1,6	1,7	83,3–82,2

после 50–55 сут опыта, так же как и численности микрофлоры.

По завершении эксперимента было определено остаточное содержание отработанного масла (табл. 2). В обоих вариантах достигнута высокая степень биодеструкции — 93–94 % — практически вне зависимости от начальной концентрации субстрата (см. табл. 2).

Уменьшение массы отработанных масел после биодеструкции сопровождалось значительным изменением их химического состава: по данным ГХ-МС, содержание

всех определяемых углеводородных компонентов снизилось на 82–100 % (табл. 3).

Известно, что окисление УВ происходит с неодинаковой скоростью, и в первую очередь биотрансформируются молекулы, имеющие наименьшую энергию разрыва связей и молекулярную массу. Реакционная способность уменьшается в ряду: *n*-алканы > изо-алканы > циклоалканы > ароматические соединения. В данном опыте биодеструкция низко- и среднемолекулярных *n*-алканов (C<sub>11</sub>–C<sub>23</sub>) составила 100 %, нефте-

новых УВ (циклогексанов) и их метилзамещенных гомологов — 97–98 %, а ароматических соединений различного строения — 82–93 % (см. табл. 3), что согласуется с классической схемой микробиологического окисления УВ различного строения.

В целом, биологический метод утилизации ОМ может служить альтернативой физико-химическим, поскольку способен приводить к практически полному разложению органического материала и имеет невысокую себестоимость. К недостаткам метода можно отнести относительно невысокую скорость процессов, требовательность к внешним условиям (температуры, рН, минерального питания, аэрации). Конечным продуктом биотрансформации будет являться микробная масса, которая может быть использована для различных целей.

### Заключение

Пилотные испытания биологического метода утилизации отработанных масел показали его высокую эффективность: при исходных концентрациях субстрата 25 и 50 % по массе его утилизация за 60 сут опыта составила 93–94 %, что сопровождалось глубокими изменениями его состава. Степень биодеструкции УВ компонентов разного строения варьировала от 82–93 до 100 % в зависимости от строения и молекулярной массы.

Разработанный консорциум из пяти видов углеводородокисляющих микроорганизмов *Aquamicrobium lusatiense*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Paracoccus aminophilus*, *Gordonia hydrophobica* и *Bacillus pumilus* проявил высокую активность при биохимическом окислении смеси масел: численность микроорганизмов за 10–11 сут возрастала от нескольких тысяч до 10<sup>9</sup> КОЕ/мл, сохраняясь на этом уровне до 50–55 сут. Это сопровождалось высокой активностью окислительно-восстановительных ферментов, участвующих в биодеструкции углеводородов.

Опытно-промышленные испытания прошли первичную стадию, которая свидетельствует о возможности использования биологического подхода для утилизации маслосодержащих органических отходов в полупромышленных масштабах.

Работа выполнена в рамках научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ (НИОКР) по теме: "Разработка опытных образцов бактериального препарата для утилизации пищевых масел и жиров, и препарата на основе микроорганизмов-деструкторов промышленных отработанных масел". Проект № 19238 в рамках гранта, выделенного Федеральным государственным бюджетным учреждением "Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере".

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта НИР V.46.1.2, выполняемого в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований (ФНИ) на 2013–2020 гг. (№ 0370-2018-0002).

## Литература

1. Ксензенко В.И., Кувшинников И.М., Скоробогатов В.С. Общая химическая технология и основы промышленной экологии. М., Изд-во Колосс, 2003. 328 с.
2. Евдокимов А.Ю. Единство естественно научного и гуманитарного подходов в решении проблем экологии. Наука и технологии в промышленности. № 4. 2011. С. 99–104.
3. Евдокимов А.Ю., Фукс И.Г., Облещикова И.Р. Экологическая безопасность применения топлив и смазочных материалов. Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. № 3. 2005. С. 28–30.
4. Чередниченко Р.О., Станьковский Л., Дорогощинская В.А. Современное состояние переработки отработанных смазочных материалов в РФ. Переработка нефти и газа, нефте- и газохимия. 2010. № 2. С. 81–85.
5. Поташников Ю.М. Утилизация отходов производства и потребления. Тверь, Изд-во ТГТУ, 2004. 107 с.
6. Каминский Э.Ф., Хавкин В.А. Глубокая переработка нефти: технологический и экологический аспекты. М., Изд-во "Техника", 2001. 384 с.
7. Томина Н.Н., Пимерзин А.А., Агафонов И.А. Методы очистки топлив и масел. Самара, РИО Самарск. гос. тех. ун-та, 2005. 178 с.
8. Оборин А.А., Хмурчик В.Т., Иларионов С.А. Нефтезагрязненные биоценозы. Пермь, Изд-во ПГУ, 2008. 511 с.
9. Ленёва Н.А., Коломыцева М.П., Баскунов Б.П., Головлева Л.А. Дegradация фенантрена и антрацена микроорганизмами рода Rhodococcus. Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. № 2. С. 188–194.
10. Филатов Д.А., Сваровская Л.И., Кочетов В.Г., Селявский В.Ю. Микробиологическое окисление смеси отработанных масел в жидкой среде. Биотехнология. 2013. № 6. С. 57–64.
11. Филатов Д.А., Сваровская Л.И., Ельчанинова Е.А., Овсянникова В.С., Алтунина Л.К. Биохимическое окисление отработанных нефтяных масел. Нефтехимия. 2015. Т. 55. № 3. С. 253–259.
12. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М., Изд-во МГУ, 2005. 445 с.
13. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М., Изд-во Наука, 2005. 252 с.
14. Другов Ю.С., Родин А.А. Анализ загрязненной почвы и опасных отходов. Практическое руководство. М., Изд-во Бином, 2007. 263 с.
15. Тимергазина А.Ф., Переходова Л.С. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами. Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2012. № 1. С. 1–12.

## References

1. Ksenzenko V.I., Kuvshinnikov I.M., Skorobogatov V.S. Obshchaya khimicheskaya tekhnologiya i osnovy promyshlennoi ekologii. M., Izd-vo Koloss, 2003. 328 s.
2. Evdokimov A.Yu. Edinstvo estestvenno nauchnogo i gumanitarnogo podkhodov v reshenii problem ekologii. Nauka i tekhnologii v promyshlennosti. № 4. 2011. S. 99–104.
3. Evdokimov A.Yu., Fuks I.G., Oblashchikova I.R. Ekologicheskaya bezopasnost' primeneniya topliv i smazochnykh materialov. Zashchita okruzhayushchei sredy v neftegazovom komplekse. № 3. 2005. S. 28–30.
4. Cherednichenko R.O., Stan'kovski L., Dorogochinskaya V.A. Sovremennoe sostoyanie pererabotki otrabotannykh smazochnykh materialov v RF. Pererabotka nefiti i gaza, nefte- i gazokhimiya. 2010. № 2. S. 81–85.
5. Potashnikov Yu.M. Utilizatsiya otkhodov proizvodstva i potrebleniya. Tver', Izd-vo TGTU, 2004. 107 s.
6. Kaminskii E.F., Khavkin V.A. Glubokaya pererabotka nefiti: tekhnologicheskii i ekologicheskii aspekty. M., Izd-vo "Tekhnika", 2001. 384 s.
7. Tomina N.N., Pimerzin A.A., Agafonov I.A. Metody ochistki topliv i masel. Samara, RIO Samarsk. gos. tekhn. un-ta, 2005. 178 s.
8. Oborin A.A., Khmurchik V.T., Ilarionov S.A. Neftezagryaznennyye biotsenozy. Perm', Izd-vo PGU, 2008. 511 s.
9. Leneva N.A., Kolomytseva M.P., Baskunov B.P., Golovleva L.A. Degradatsiya fenantrena i antratsena mikroorganizmami roda Rhodococcus. Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2009. T. 45. № 2. S. 188–194.
10. Filatov D.A., Svarovskaya L.I., Kochetov V.G., Selyavskii V.Yu. Mikrobiologicheskoe okislenie smesi otrabotannykh masel v zhidkoi srede. Biotekhnologiya. 2013. № 6. S. 57–64.
11. Filatov D.A., Svarovskaya L.I., El'chaninova E.A., Ovsyannikova V.S., Altunina L.K. Biokhicheskoe okislenie otrabotannykh nefityanykh masel. Neftekhimiya. 2015. T. 55. № 3. S. 253–259.
12. Zvyagintsev D.G., Bab'eva I.P., Zenova G.M. Biologiya pochv. M., Izd-vo MGU, 2005. 445 s.
13. Khaziev F.Kh. Metody pochvennoi enzimologii. M., Izd-vo Nauka, 2005. 252 s.
14. Drugov Yu.S., Rodin A.A. Analiz zagryaznennoi pochvy i opasnykh otkhodov. Prakticheskoe rukovodstvo. M., Izd-vo Binom, 2007. 263 s.
15. Timergazina A.F., Perekhodova L.S. K probleme biologicheskogo okisleniya nefiti i nefteproduktov uglevodorodokislyayushchimi mikroorganizmami. Neftegazovaya geologiya. Teoriya i praktika. 2012. № 1. S. 1–12.

Д.А. Филатов – канд. биол. наук, науч. сотрудник, Институт химии нефти СО РАН, 634021 Россия, г. Томск, пр. Академический 4, e-mail: filatov@ipc.tsc.ru • В.С. Овсянникова – канд. хим. наук, научный сотрудник • К.А. Шаршов – канд. биол. наук, специалист, ЗАО "Биоойл", 630091 Россия, г. Новосибирск, ул. Мичурина 12а, офис 406, e-mail: sharshov@yandex.ru • В.А. Забелин – канд. техн. наук, ген. директор, e-mail: zabelin53@mail.ru • Д.И. Чуйкина – науч. сотрудник, Институт химии нефти СО РАН, 634021 Россия, г. Томск, пр. Академический 4

D.A. Filatov – Cand. Sci. (Biol.), Research Scientist, Institute of Petroleum Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 634021 Russia, Tomsk, Akademicheskyy pr. 4, e-mail: filatov@ipc.tsc.ru • V.S. Ovsyannikova – Cand. chemical Sciences, Research Scientist • K.A. Sharshov – Cand. Sci. (Biol.), Specialist, CJSC Biooil, 630091 Russia, Novosibirsk, Michurin Str. 12a, off. 406, e-mail: sharshov@yandex.ru • V.A. Zabelin – Cand. Sc. (Eng.), General Director, e-mail: zabelin53@mail.ru • D.I. Chuiкина – research scientist, Institute of Petroleum Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 634021 Russia, Tomsk, Akademicheskyy Pr. 4