

Торф и продукты его переработки

УДК 544.77.052.5

ДЕТОКСИЦИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ТОРФОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К НЕФТЕПРОДУКТАМ В ПОЧВЕННОЙ ЭКОСИСТЕМЕ

© *Е.Д. Дмитриева**, *М.М. Герцен*, *А.А. Дремова*

*Тульский государственный университет, пр. Ленина, 92, Тула, 300012
(Россия), e-mail: dmitrieva_ed@rambler.ru*

Установлено стимулирующее действие гуминовых кислот на рост биомассы тест-объекта – кресс-салата: предложен ряд по проявляемому положительному эффекту на биомассу проростков. Выявлена корреляционная зависимость влияния токсикантов на тест-объект от его состава. Показано, что легкая фракция нефти оказывает минимальный токсический эффект на кресс-салат в следствие повышенной летучести, в отличие от нефти. Методом биотестирования установлена детоксицирующая способность гуминовых кислот торфов отдельно и совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами рода *Rhodococcus* на инертном субстрате. Гуминовые кислоты независимо от генезиса оказывают стимулирующее действие на тест-объект. Максимальное стимулирующее действие на тест-объект проявляют гуминовые кислоты, выделенные из низинных торфов. Биомасса проростков кресс-салата на загрязненном грунте в присутствии гуминовых кислот и микроорганизмов рода *Rhodococcus* во всех вариантах опытов с модельными токсикантами была выше по сравнению с вариантом без обработки гуминовыми кислотами. Рассчитаны коэффициенты детоксикации гуминовых кислот отдельно и совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами рода *Rhodococcus* по отношению к гексадекану: максимальный детоксицирующий эффект проявляли гуминовые кислоты сфагнового верхового и переходного торфов: 70–75%. Совместное применение гуминовых кислот и микроорганизмов *Rh. erythropolis S67*, *Rh. erythropolis X5* увеличивает детоксицирующий эффект гуминовых кислот на 4–22%. Значения коэффициентов детоксикации изменяется в диапазоне 59–85% в зависимости от генезиса гуминовых кислот и выбранного штамма микроорганизмов. Значения коэффициентов детоксикации гуминовых кислот совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами рода *Rhodococcus* превышают показатели контроля и вариантов опыта с использованием только одних гуминовых кислот за счет возможности родококков продуцировать биологически активные сурфактанты, способные в большей степени эмульгировать и биodeградировать углеводороды нефти в объектах окружающей среды.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, нефть, нефтепродукты, микроорганизмы-нефтедеструкторы, *Rhodococcus*, коэффициенты детоксикации.

Введение

Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами является одним из основных последствий технического прогресса человека. При этом изменения, происходящие в окружающей среде, негативно влияют как на качество жизни людей, так и на микроорганизмы, животный и растительный мир. Поступление сырой нефти в экосистемы (главным образом наземные и водные) является результатом утечки нефтепродуктов [1]. В настоящее время около 80% земель загрязнено продуктами нефтяного происхождения (углеводороды, растворители и т. д.), используемыми в качестве источника энергии в нефтяной промышленности [2]. Существуют различные загрязняющие вещества, влияющие на верхний слой почвы и недра, такие как топливо, углеводородные остатки, сырая нефть и другие продукты, возникающие в результате утечки (насыщенные и ненасыщенные алифатические углеводороды, а также моноциклические и полициклические ароматические соединения) [3]. Поэтому актуально проведение исследований, направленных

Дмитриева Елена Дмитриевна – кандидат химических наук, доцент кафедры химии,
e-mail: dmitrieva_ed@rambler.ru
Герцен Мария Михайловна – аспирант,
e-mail: mani.leontyeva@gmail.com
Дремова Анастасия Андреевна – магистрант,
e-mail: nastia250.15@yandex.ru

на решение проблем, связанных с загрязнением почвенной среды в результате разлива нефтепродуктов, оказывающего негативное влияние на выращиваемые сельскохозяйственные культуры. В результате загрязнения сырой нефтью могут быть заблокированы физические свойства почвы, такие

* Автор, с которым следует вести переписку.

как поровые пространства, что приводит к уменьшению аэрации, проникновению воды, увеличению насыпной плотности почвы, ведущее к угнетению роста растений. Сырая нефть, плотность которой выше плотности воды, может снизить или ограничить проницаемость почвы. Кроме того, углеводороды нефти оказывают неблагоприятное воздействие на физические свойства почв, включая уменьшение порового пространства, насыщенную гидравлическую проводимость и увеличенную насыпную плотность. Одним из наиболее перспективных методов по очистке загрязненных углеводородами нефти почв является их биоремедиация с применением штаммов бактерий, способствующих быстрой деградации нефти [4]. Рекультивация загрязненных почв с использованием микроорганизмов-нефтедеструкторов заключается в одновременной активации аборигенной микрофлоры почвы бактериями и параллельной интродукцией адаптированных к загрязнителю и условиям внешней среды штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов [5]. При введении в токсичную среду природных биологически активных полимеров – гуминовых кислот (ГК) благодаря их сложной внутримолекулярной организации происходит не только сорбция нефтяных углеводородов, но и повышение метаболической активности микроорганизмов-нефтедеструкторов за счет того, что гуминовые кислоты выступают в качестве питательного субстрата [6]. Микробиотические особенности гуминовых кислот способствуют проявлению сильной деструктивной активности при попадании в почвенную среду, загрязненную углеводородами нефти.

Цель работы – определить детоксицирующую способность гуминовых кислот совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами рода *Rhodococcus* по отношению к углеводородам нефти в инертном субстрате методом биотестирования с тест-объектом – кресс-салатом.

Экспериментальная часть

Объекты исследования – гуминовые кислоты торфов различного генезиса: тростникового низинного торфа (ТНТ), черноольхового низинного торфа (ЧНТ), сфагнового верхового торфа (СВТ) и сфагнового переходного торфа (СПТ) [7], выделенные и охарактеризованные по ранее описанной методике [8, 9]; штаммы бактерий *Rhodococcus erythropolis S67*, *Rhodococcus erythropolis X5* [10], входящие в состав биопрепарата «МикроБак», применяемого для биоремедиации нефтезагрязненных территорий [11]. Модельные загрязнители: гексадекан – представитель легкой фракции нефти, нефть с нефтеперерабатывающего завода АО «ГАЗПРОМНЕФТЬ-МНПЗ». Тест-объект – кресс-салат «Забава». Тест-отклик – биомасса проростков кресс-салата. Растворы гуминовых кислот готовили по методике, описанной в работе [12]. Микроорганизмы культивировали в полноценной среде Лурия-Бертани (ЛБ) [13]. Готовые среды стерилизовали автоклавированием в течение 30 мин при 120 °С. Бактерии выращивали в жидкой питательной среде Лурия-Бертани в течение 24 ч для получения инокулята [13]. Эксперимент проводили по методике, описанной в работах [14, 15]. Варианты опыта:

1. Контроль (песок);
2. Контроль + модельный загрязнитель;
3. Контроль + гуминовые кислоты;
4. Контроль + гуминовые кислоты+ модельный загрязнитель;
5. Контроль + гуминовые кислоты + микроорганизмы рода *Rhodococcus* + модельный загрязнитель.

Длительность эксперимента составляла 14 суток, после чего определяли биомассу проростков тест-объекта.

Обсуждение результатов

Для изучения связывающей способности гуминовых кислот по отношению к нефти и нефтепродуктам в присутствии микроорганизмов рода *Rhodococcus* в почвенных средах был выбран метод биотестирования [16]. Влияние ГК на морфологические, анатомические, цитологические признаки и физиологическую активность растений многообразно. Согласно литературным данным [17, 18], установлено, что гуминовые кислоты принимают активное участие в активизации корнеобразования у растений, в изменении селективности клеточных мембран организмов по отношению к элементам минерального питания. Гуминовые кислоты оказывают положительное воздействие на все фазы митотического цикла клеток и вызывают увеличение значения митотического индекса в 1.5 раза [18].

Изучали влияние гуминовых кислот на тест-объект кресс-салат. Тест-откликом являлся прирост биомассы проростков (рис. 1).

Установлено, что при обработке модельного субстрата раствором гуминовых кислот отмечается увеличение биомассы проростков кресс-салата (рис. 1) на 51–84% относительно контроля. Эксперимент показал, что наибольший положительный эффект на прирост биомассы оказывает внесение в грунт гуминовых кислот тростникового низинного торфа [19]: прирост биомассы относительно контроля составил 84%. Известно, что гуминовые кислоты являются аккумуляторами органического вещества почвы – аминокислот, углеводов, пигментов, биологически активных веществ и лигнина [18] и в них концентрируются ценные неорганические компоненты почв – элементы минерального питания (азот, фосфор, калий), микроэлементы (железо, цинк, медь, марганец, бор, молибден и т.д.), поэтому внесение гуминовых кислот в модельный субстрат обеспечивает стимулирование роста и развития проростков, повышение всхожести, энергии прорастания [15] и, соответственно, прирост биомассы проростков. По величине положительного эффекта на биомассу кресс-салата анализируемые гуминовые кислоты располагаются в следующий ряд: ГК ТНТ > ГК ЧНТ > ГК СВТ > ГК СПТ.

Нефть и нефтепродукты в зависимости от фракционного состава и количества оказывают токсическое действие на все живые организмы [12, 20]. При концентрации нефти свыше 2 г на 1 кг почвы происходит необратимое угнетение растений [12]. Невысокое содержание нефти в почве (0.15%) снижает урожай зерновых культур.

Устанавливали влияние модельных токсикантов на прирост биомассы проростков кресс-салата: присутствие в модельном грунте нефти и гексадекана приводило к снижению прироста биомассы семян. Минимальное ингибирующее действие на исследуемые параметры отмечено в среде с гексадеканом (рис. 2).

Полученные значения коррелируют с экспериментальными данными по определению влияния углеводородов нефти на посевные качества семян кресс-салата [15]. Выявленный высокий уровень деградации тест-объекта под действием нефтезагрязнения субстрата зависит от относительного содержания тяжелых и легких фракций в нефти: степень токсичности легкой фракции нефти снижается с уменьшением ее содержания, но увеличивается токсичность ароматических соединений с возрастанием относительного их содержания. Большая часть легкой фракции нефти – гексадекана в загрязненной почве улетучивается, при этом тяжелая фракция остается в основном слое почвы, проникает в ризосферу, вызывая высокое губительное действие на всю корневую систему.

Внесение гуминовых кислот сфагнового верхового торфа в грунт, загрязненный гексадеканом, обеспечивает максимальный прирост биомассы тест-объекта относительно контроля в 2 раза (рис. 3).

Наибольший стимулирующий эффект получен при внесении гуминовых кислот в грунт, загрязненный нефтью. Так, на 14-й день учета биомасса была в 3 раза выше по сравнению с теми же показателями, полученными на субстрате с нефтью, не обработанном ГК (рис. 3). Максимальный стимулирующий эффект наблюдался в присутствии гуминовых кислот черноольхового низинного торфа.

При добавлении гуминовых кислот совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами рода *Rhodococcus* в загрязненный токсикантами грунт максимальный прирост биомассы проростков относительно контроля наблюдался у гуминовых кислот тростникового низинного торфа и микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* в случае загрязнения гексадеканом и гуминовых кислот черноольхового низинного торфа и микроорганизмов *Rh. erythropolis X5* в случае загрязнения нефтью (рис. 4).

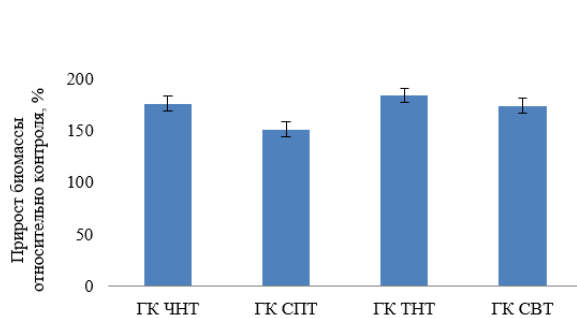


Рис. 1. Влияние гуминовых кислот на биомассу проростков кресс-салата

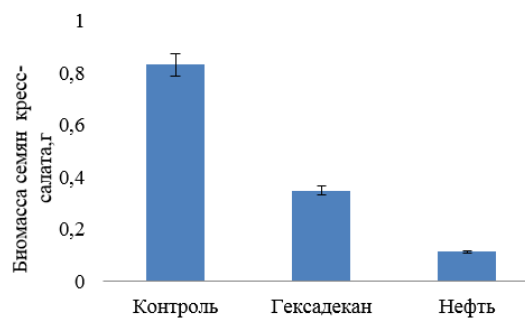


Рис. 2. Влияние внесения углеводородных загрязнителей на биомассу семян кресс-салата

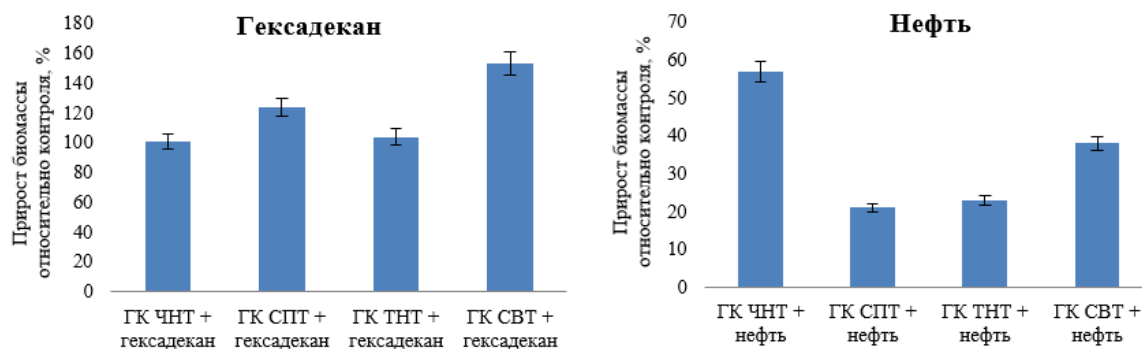


Рис. 3. Влияние гуминовых кислот на прирост биомассы проростков кресс-салата в присутствии углеводородных загрязнителей

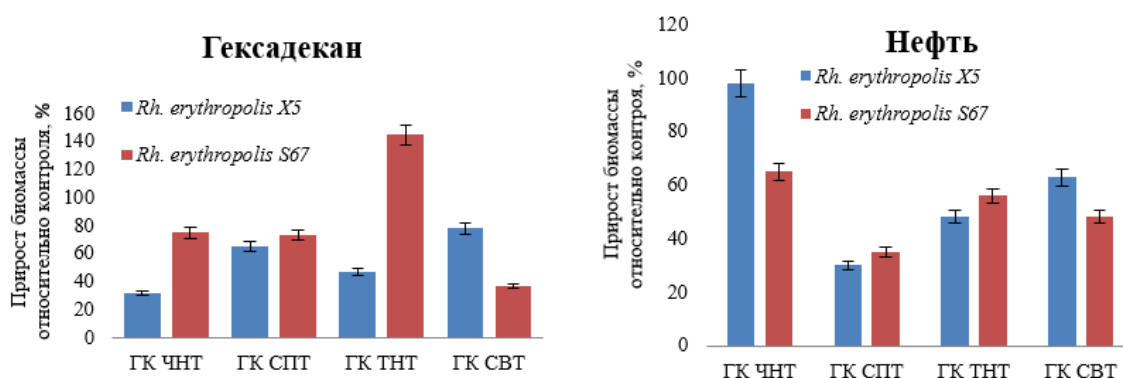


Рис. 4. Влияние внесения биокомпозиций на основе гуминовых кислот и микроорганизмов рода *Rhodococcus* на прирост биомассы проростков кресс-салата в присутствии углеводородных загрязнителей

Максимальное стимулирующее действие на тест-объект во всех вариантах экспериментов наблюдается у гуминовых кислот, выделенных из низинных торфов, что связано с содержанием в них большого количества азотсодержащих соединений, влияющих на интенсивность микробиологических процессов в грунте, обогащенном кислородом, вызывающим стимулирование естественных процессов самоочищения эукариот.

Биомасса проростков кресс-салата на загрязненном грунте в присутствии ГК и микроорганизмов рода *Rhodococcus* во всех вариантах опытов с модельными токсикантами была выше по сравнению с вариантом без обработки ГК, что подтверждает стимулирующий и детоксицирующий эффект данных биологических систем на тест-культуру.

Для количественной оценки детоксицирующего действия гуминовых кислот определяли коэффициенты детоксикации (D), оцениваемые по относительному уменьшению токсического эффекта модельного загрязнителя в присутствии ГК по сравнению с исходным токсическим эффектом модельного загрязнителя:

$$D = \frac{T_{\text{ЭТ}} - T_{\text{ГК + ЭТ}}}{T_{\text{ЭТ}}} \quad (1)$$

$$D = \frac{T_{\text{M/O + ЭТ}} - T_{\text{ГК + ЭТ}}}{T_{\text{M/O + ЭТ}}} \quad (2)$$

Суммируя выше представленные уравнения, коэффициент детоксикации (D) рассчитывали через величины соответствующих тест-откликов с помощью следующих уравнений [20]:

$$D = \left(1 - \frac{\frac{R_{ГК} - R_{ГК + \text{эт}}}{R_{ГК}}}{\frac{R_o - R_{от}}{R_o}} \right) \times 100\% \quad (3)$$

$$D = \left(1 - \frac{\frac{R_{ГК} - R_{ГК + \text{эт}}}{R_{ГК}}}{\frac{R_o - R_{M/o + \text{эт}}}{R_o}} \right) \times 100\% \quad (4)$$

Полученные данные по коэффициентам детоксикации гуминовых кислот и биокомпозиций на их основе по отношению к нефтепродуктам представлены на рисунке 5.

Выявлено снижение токсического эффекта гексадекана гуминовыми кислотами на тест-объект. Максимальный детоксицирующий эффект проявляли ГК СВТ и ГК СПТ: 70–75% (рис. 5). Микроорганизмы *Rh. erythropolis S67*, *X5* увеличивали детоксицирующий эффект гуминовых кислот на 4–11%. Значения D в присутствии микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и ГК СВТ, ГК СПТ 76–71%; *Rh. erythropolis X5* и ГК СВТ, ГК СПТ 74–82% соответственно.

В случае нефтезагрязнения максимальный коэффициент детоксикации у ГК ЧНТ и ГК СВТ 22% и 10% соответственно (рис. 5). Добавление микроорганизмов рода *Rhodococcus* увеличивает значения коэффициентов детоксикации: максимальные значения в присутствии микроорганизмов *Rh. erythropolis X5* и ГК ЧНТ и ГК СВТ 85% и 62%, *Rh. erythropolis S67* и ГК ЧНТ и ГК ТНТ 60% и 59% соответственно. Значения коэффициентов детоксикации гуминовых кислот совместно с микроорганизмами–нефтедеструкторами превышают показатели контроля и вариантов опыта с использованием только одних гуминовых кислот.

Одним из важнейших механизмов утилизации компонентов нефти является образование микроорганизмами биосурфактантов или биоэмульгаторов [10]. Они приводят к солюбилизации углеводородов нефти, образованию мелкодисперсных эмульсий, в результате чего облегчается контакт микробных клеток с гидрофобным субстратом. Данному факту способствуют уникальные биологические, физиологические и биохимические особенности этой группы микроорганизмов. Широкий спектр метаболических возможностей обуславливает способность родококков трансформировать и деградировать разнообразные по химической структуре углеводороды (алифатические, ароматические, нитроароматические, поли- и гетероциклические) и их производные (пестициды, полихлорированные бифенилы, фенолы, нитрилы). При внесении бактерий-деструкторов на загрязненный субстрат они прикрепляются к пленке нефти на разделе фаз нефть-вода или нефть-почва и включаются в процесс биодegradации углеводородов [21].

Полученные результаты служат доказательством перспективности совместного применения гуминовых кислот торфов и микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и *Rh. erythropolis X5* в качестве экологически безопасных ремедиантов нефтезагрязненных почвенных систем, однако для подтверждения эффективности совместного действия данных систем необходимо провести эксперименты на реальных образцах и с использованием нефтезагрязненных почв.

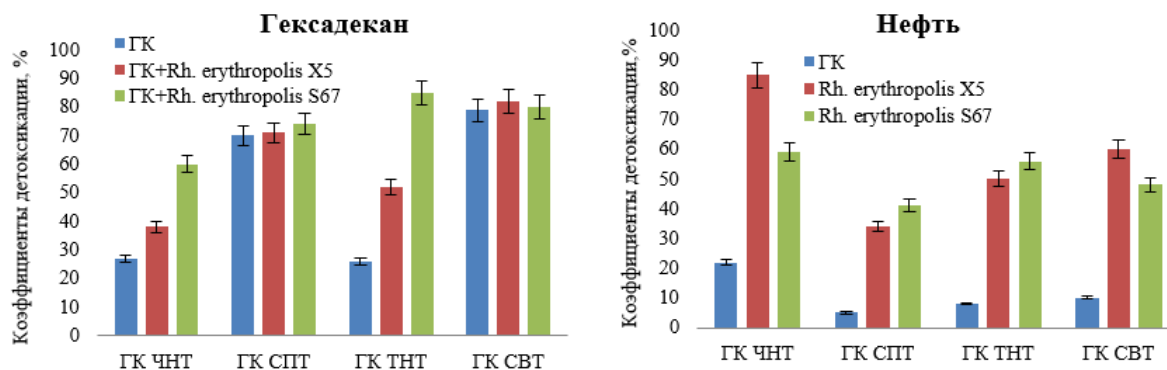


Рис. 5. Детоксицирующий эффект биокомпозиций на основе гуминовых кислот и микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* по отношению к модельным токсикантам

Выводы

Установлено, что гуминовые кислоты способны стимулировать рост кресс-салата; так, биомасса проростков увеличивается на 51–84% относительно контроля. Максимальный положительный эффект на биомассу проростков оказывают гуминовые кислоты тростникового низинного торфа, обогащенных лигнином, который влияет на основные физико-механические свойства растений. По величине положительного эффекта на биомассу проростков кресс-салата анализируемые образцы гуминовых кислот располагаются в следующей последовательности: ГК ТНТ > ГК ЧНТ > ГК СВТ > ГК СПТ.

Выявлено, что при загрязнении инертного субстрата модельными токсикантами минимальное ингибирующее действие на прирост биомассы проростков кресс-салата отмечается в среде с гексадеканом, являющимся легкой нефтяной фракцией, что связано с его быстрым улетучиванием с поверхностного слоя почвы в отличие от нефти, тяжелые фракции которой проникают в ризосферу, вызывая высокое губительное действие на всю корневую систему растения. При добавлении в систему гуминовых кислот токсическое действие нефтепродуктов снижается в 1.5–3 раза относительно контроля. Внесение гуминовых кислот сфагнового верхового торфа в грунт, загрязненный гексадеканом, обеспечивает максимальный прирост биомассы тест-объекта относительно контроля в 2 раза. В случае нефтезагрязнения прирост биомассы проростков при добавлении в систему гуминовых кислот черноольхового низинного торфа увеличивается в 3 раза относительно контроля.

Совместное применение гуминовых кислот и микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* в загрязненный токсикантами грунт обеспечивает максимальный прирост биомассы проростков относительно контроля в случае использования гуминовых кислот тростникового низинного торфа и микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* при загрязнении гексадеканом и гуминовых кислот черноольхового низинного торфа и микроорганизмов *Rh. erythropolis X5* при загрязнении нефтью. Максимальное стимулирующее действие на тест-объект во всех вариантах экспериментов наблюдается у гуминовых кислот, выделенных из низинных торфов, что связано с содержанием в них большого количества азотсодержащих соединений, влияющих на интенсивность микробиологических процессов в грунте, обогащенном кислородом, вызывающим стимулирование естественных процессов самоочищения эукариот.

Рассчитаны коэффициенты детоксикации гуминовых кислот отдельно и совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами рода *Rhodococcus* по отношению к гексадекану: максимальный детоксицирующий эффект проявляли ГК СВТ и ГК СПТ: 70–75%. Микроорганизмы *Rh. erythropolis S67*, *X5* увеличивали детоксицирующий эффект гуминовых кислот на 4–11%. В случае нефтезагрязнения максимальный коэффициент детоксикации у ГК ЧНТ и ГК СВТ 22% и 10% соответственно. Добавление микроорганизмов рода *Rhodococcus* увеличивает значения коэффициентов детоксикации более чем на 50%. Повышенные значения коэффициентов детоксикации гуминовых кислот совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами обусловлены способностью родококков продуцировать биологически активные сурфактанты, которые в большей степени эмульгируют и биodeградируют углеводороды нефти в объектах окружающей среды.

Список литературы

1. Гриценко А.И., Аكوпова Г.С., Максимов В.М. Экология. Нефть и газ. М., 1997. 598 с.
2. Другов Ю.С. Мониторинг органических загрязнений природной среды. 500 методик: практическое руководство. М., 2009. 893 с.
3. Абдрахмонов Т.А., Жаббаров З.А., Хушвактов Э.М. Влияние загрязнений почвы нефтью и нефтепродуктами на ее микрофлору // Материалы IV съезда почвоведов и агрохимиков Узбекистана. Ташкент, 2005. С. 208–209.
4. Семенова А.А., Зайнулгабдинов Э.Р., Мадякина М.В., Юранец-Лужаева Р.Ч., Шулаев М.В., Петров А.М. Влияние применения биологически активных препаратов на токсикологические характеристики и деструктивную активность нефтезагрязненной почвы в ходе проведения рекультивационных работ // Вестник Казанского технологического университета. 2015. №18(12). С. 178–182.
5. Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде // Прикладная биохимия и микробиология. 1996. Вып. 32(6). С. 579–585.
6. Утомбаева А.А., Петров А.М., Зайнулгабдинов Э.Р., Мадякина М.В., Шулаев М.В. Исследование токсикологических характеристик нефтезагрязненной почвы в процессе рекультивации с применением биологически активных веществ // Вестник КазНТУ. 2017. Т. 20. №14. С. 143–145.
7. Бойкова О.И., Волкова Е.М. Химические и биологические свойства торфов Тульской области // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2013. №3. С. 253.

8. Дмитриева Е.Д., Леонтьева М.М., Сюдюкова К.В. Молекулярно-массовое распределение гуминовых веществ и гиматомелановых кислот торфов различного генезиса Тульской области // Химия растительного сырья. 2017. №4. С. 187. DOI: 10.14258/jcrpm.2017041933.
9. Дмитриева Е.Д., Горячева А.А., Сюдюкова К.В. Электрофоретический анализ гуминовых веществ различного происхождения в полиакриламидном геле в присутствии денатурирующих агентов // Международный Научный Институт «Educatio». 2014. №4 (2). С. 152.
10. Нечаева И.А. Биодegradация углеводов нефти психротрофными микроорганизмами-деструкторами: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Пушино, 2009. 175 с.
11. Патент №2378060 (РФ). Биопрепарат для очистки почв от загрязнений нефтью и нефтепродуктами, способ его получения и применения / А.Е. Филонов, И.А. Кошелева, В.А. Самойленко, И.А. Нечаева, И.Ф. Пунтус, А.М. Боронин, К.В. Петриков. 2012.
12. Гречищева Н.Ю. Разработка научных основ применения гуминовых веществ для ликвидации последствий нетезагрязнения почвенных и водных сред: дисс. ... канд. хим. наук. М., 2016. 326 с.
13. Акатова Е.В., Дмитриева Е.Д., Сюдюкова К.В., Леонтьева М.М., Музафаров Е.Н. Детоксицирующая способность гуминовых веществ торфов различного происхождения по отношению к ионам тяжелых металлов // Химия растительного сырья. 2017. №1. С. 119–127. DOI: 10.14258/jcrpm.2017011382.
14. Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Влияние гуминовых кислот в присутствии микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* на посевные качества кресс-салата в условиях нефтяного загрязнения // Химия растительного сырья. 2020. №2. С. 291–298. DOI: 10.14258/jcrpm.2020025552.
15. Дмитриева Е.Д., Герцен М.М., Горелова С.В. Влияние гуминовых кислот на посевные качества кресс-салата в условиях нефтяного загрязнения // Химия растительного сырья. 2019. №4. С. 349–357. DOI: 10.14258/jcrpm.2019045521.
16. Дагуров А.В. Влияние гуматов на токсичность углеводов нефти: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2004. 24 с.
17. Таран Д.О., Жданова Г.О., Саксонов М.Н., Бархатова О.А., Быбин В.А., Стом Д.И. Влияние гуминовых веществ на тест-объекты // Acta Biomedica Scientifica. 2013. №6(94). С. 164–168.
18. Комаров А.А. Роль гидролизного лигнина в плодородии почв и питании растений: дисс. ... д-ра с.-х. наук. СПб., 2004. 383 с.
19. Schulten H.R., Schnitzer M. A state of the art structural concept for humic substances // Naturwissenschaften. 1993. Vol. 80. Pp. 29–30. DOI: 10.1007/BF01139754.
20. Салеев К.М. Использование гуминовых препаратов для детоксикации и биодegradации нефтяного загрязнения: автореф. дисс. ... канд. хим. наук. М., 2004. 30 с.
21. Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Стабилизирующая способность гуминовых веществ и микроорганизмов рода *Rhodococcus* по отношению к нефтепродуктам // Вестник ТвГУ. 2020. Т. 41. №3. С. 112–123. DOI: 10.26456/vtchem2020.3.12.

Поступила в редакцию 4 июня 2021 г.

После переработки 15 февраля 2022 г.

Принята к публикации 14 апреля 2022 г.

Для цитирования: Дмитриева Е.Д., Герцен М.М., Дремова А.А. Детоксицирующая способность гуминовых кислот торфов по отношению к нефтепродуктам в почвенной экосистеме // Химия растительного сырья. 2022. №2. С. 261–269. DOI: 10.14258/jcrpm.2022029684.

*Dmitriyeva Ye.D.**, *Gertsen M.M.*, *Dremova A.A.* DETOXIFYING ABILITY OF PEAT HUMIC ACIDS TO PETROLEUM PRODUCTS IN THE SOIL ECOSYSTEM

Tula State University, pr. Lenina, 92, Tula, 300012 (Russia), e-mail: dmitrieva_ed@rambler.ru

The stimulating effect of humic acids on the growth of the biomass of the test object was established. A series of positive effects on the biomass of seedlings was proposed. The correlation dependence of the effect of toxicants on the cockweed on its composition was revealed. It was shown that the light ends of oil has a minimal toxic effect on cockweed due to increased volatility, in contrast to petroleum. The detoxifying ability of peat humic acids was established separately and together with oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* on the inert substrate by the method of biotesting. Humic acids had a stimulating effect on the test object regardless of their genesis. The maximum stimulating effect on the test object was exhibited by humic acids isolated from fen peats. The biomass of cockweed seedlings on contaminated soil in the presence of humic acids and microorganisms of the genus *Rhodococcus* in all variants of experiments with model toxicants was higher compared to the variant without treatment with humic acids. The detoxification coefficients of humic acids were calculated separately and together with oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* in the relation to hexadecane: the humic acids of sphagnum high-moor peat and sphagnum transitional peat showed the maximum detoxifying effect: 70–75%. Combined use of humic acids and microorganisms *Rh. erythropolis* S67, *Rh. erythropolis* X5 increased the detoxifying effect of humic acids by 4–22%. The values of the detoxification coefficients vary in the range of 59–85%, depending on the genesis of humic acids and the selected strain of microorganisms. The values of the detoxification coefficients of humic acids together with oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* exceed the indicators of control and experimental options using only humic acids due to the ability of *Rhodococcus* to produce biologically active surfactants capable of more emulsification and biodegradation of oil hydrocarbons in the environment.

Keywords: humic acids, oil, petroleum products, oil-degrading microorganisms, *Rhodococcus*, detoxification coefficient.

References

1. Gritsenko A.I., Akopova G.S., Maksimov V.M. *Ekologiya. Neft' i gaz*. [Ecology. Oil and gas]. Moscow, 1997, 598 p. (in Russ.).
2. Drugov Yu.S. *Monitoring organicheskikh zagryazneniy prirodnoy sredy. 500 metodik: prakticheskoye rukovodstvo*. [Monitoring of organic pollution of the natural environment. 500 techniques: a practical guide]. Moscow, 2009, 893 p. (in Russ.).
3. Abdrakhmonov T.A., Zhabbarov Z.A., Khushvaktov E.M. *Materialy IV s"yezda pochvovedov i agrokhimikov Uzbekistana*. [Proceedings of the IV Congress of soil scientists and agrochemists of Uzbekistan]. Tashkent, 2005, pp. 208–209. (in Russ.).
4. Semenova A.A., Zaynulgabidinov E.R., Madyakina M.V., Yuranets-Luzhayeva R.Ch., Shulayev M.V., Petrov A.M. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, 2015, no. 18(12), pp. 178–182. (in Russ.).
5. Koronelli T.V. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1996, vol. 32(6), pp. 579–585. (in Russ.).
6. Utombayeva A.A., Petrov A.M., Zaynulgabidinov E.R., Madyakina M.V., Shulayev M.V. *Vestnik KazNTU*, 2017, vol. 20, no. 14, pp. 143–145. (in Russ.).
7. Boykova O.I., Volkova Ye.M. *Izvestiya TulGU. Yestestvennyye nauki*, 2013, no. 3, p. 253. (in Russ.).
8. Dmitriyeva Ye.D., Leont'yeva M.M., Syundyukova K.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 4, p. 187. DOI: 10.14258/jcprm.2017041933. (in Russ.).
9. Dmitriyeva Ye.D., Goryacheva A.A., Syundyukova K.V. *Mezhdunarodnyy Nauchnyy Institut "Educatio"*, 2014, no. 4 (2), p. 152. (in Russ.).
10. Nechayeva I.A. *Biodegradatsiya uglevodorodov nefi psikhrotrofnymi mikroorganizmami-destruktorami: avtoref. diss. ... kand. biol. nauk*. [Biodegradation of oil hydrocarbons by psychrotrophic microorganisms-destructors: Ph.D. diss. ... cand. biol. Sciences]. Pushchino, 2009, 175 p. (in Russ.).
11. Patent 2378060 (RU). 2012. (in Russ.).
12. Grechishcheva N.Yu. *Razrabotka nauchnykh osnov primeneniya guminovykh veshchestv dlya likvidatsii posledstviy netezagryazneniya pochvennykh i vodnykh sred: diss. ... kand. khim. nauk*. [Development of scientific bases for the use of humic substances to eliminate the consequences of non-pollution of soil and water environments: diss. ... cand. chem. Sciences]. Moscow, 2016, 326 p. (in Russ.).
13. Akatova Ye.V., Dmitriyeva Ye.D., Syundyukova K.V., Leont'yeva M.M., Muzafarov Ye.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 1, pp. 119–127. DOI: 10.14258/jcprm.2017011382. (in Russ.).
14. Gertsen M.M., Dmitriyeva Ye.D. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2020, no. 2, pp. 291–298. DOI: 10.14258/jcprm.2020025552. (in Russ.).
15. Dmitriyeva Ye.D., Gertsen M.M., Gorelova S.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 349–357. DOI: 10.14258/jcprm.2019045521. (in Russ.).
16. Dagurov A.V. *Vliyaniye gumatov na toksichnost' uglevodorodov nefi: avtoref. diss. ... kand. biol. nauk*. [Influence of humates on the toxicity of petroleum hydrocarbons: author. diss. ... cand. biol. Sciences]. Irkutsk, 2004, 24 p. (in Russ.).
17. Taran D.O., Zhdanova G.O., Saksonov M.N., Barkhatova O.A., Bybin V.A., Stom D.I. *Acta Biomedica Scientifica*, 2013, no. 6(94), pp. 164–168. (in Russ.).

* Corresponding author.

18. Komarov A.A. *Rol' gidroliznogo lignina v plodorodii pochv i pitanii rasteniy: diss. ... d-ra s.-kh. nauk.* [The role of hydrolytic lignin in soil fertility and plant nutrition: diss. ... doctor of agricultural sciences]. St. Petersburg, 2004, 383 p. (in Russ.).
19. Schulten H.R., Schnitzer M. *Naturwissenschaften*, 1993, vol. 80, pp. 29–30. DOI: 10.1007/BF01139754.
20. Saleyem K.M. *Ispol'zovaniye guminovykh preparatov dlya detoksikatsii i biodegradatsii neftyanogo zagryazneniya: avtoref. diss. ... kand. khim. nauk.* [The use of humic preparations for detoxification and biodegradation of oil pollution: Ph.D. diss. ... cand. chem. Sciences]. Moscow, 2004, 30 p. (in Russ.).
21. Gertsen M.M., Dmitriyeva Ye.D. *Vestnik TvGU*, 2020, vol. 41, no. 3, pp. 112–123. DOI: 10.26456/vtchem2020.3.12. (in Russ.).

Received June 4, 2021

Revised February 15, 2022

Accepted April 14, 2022

For citing: Dmitriyeva Ye.D., Gertsen M.M., Dremova A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 2, pp. 261–269. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022029684.

