

## ДЕГРАДАЦИЯ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ БИОКОМПОЗИЦИЯМИ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ТОРФОВ И МИКРООРГАНИЗМОВ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ

Е.Д. Дмитриева<sup>1</sup>, В.И. Гриневич<sup>2</sup>, М.М. Герцен<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра химии, Естественнонаучный институт, ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», пр. Ленина, 92, Тула, Российская Федерация, 300012

E-mail: dmitrieva\_ed@rambler.ru, gertsen@gmail.com

<sup>2</sup>Кафедра промышленной экологии, Факультет неорганической химии и технологии, ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет», пр. Шереметевский, 7, Иваново, Российская Федерация, 153000

E-mail: grin@isuct.ru

*В данной работе приведен литературный обзор применения гуминовых кислот в экоадаптивных технологиях, биологических и биотехнологических методов ремедиации объектов окружающей среды от нефтяного загрязнения, а также суммированы результаты исследований по разработке биоконпозиций на основе гуминовых кислот торфов и микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* для инактивации нефти и нефтепродуктов в почвенных и водных средах при различных абиотических условиях. Биоконпозиции обладают повышенной диспергирующей, солюбилизующей, стабилизирующей и биodeградирующей способностью по отношению к нефти и нефтепродуктам в пресной, соленой воде и в условиях пониженной температуры. Показана перспективность комбинированного применения бактерий-нефтедеструкторов и гуминовых кислот в составе биоконпозиций как биотехнологического направления в разработке эффективных биопрепаратов для деструкции нефтяных углеводородов. Различия в инактивирующей способности биоконпозиций по отношению к нефти и нефтепродуктам связаны со способностью штаммов микроорганизмов формировать биопленку на поверхности гуминовых кислот. Наиболее универсальными в водных средах с максимальной биodeградационной способностью являются биоконпозиции «Гуминовые кислоты сфагнового верхового торфа + *R. erythropolis* S67»; «Гуминовые кислоты тростникового низинного + *R. erythropolis* S67»; «Гуминовые кислоты сфагнового верхового торфа + *R. erythropolis* X5». Стабилизирующая способность биоконпозиций определяется происхождением гуминовых кислот и не зависит от выбранного штамма бактерий. Высокая биodeградебельность биоконпозиций обусловлена синергизмом действия бактерий-нефтедеструкторов и гуминовых кислот в условиях нефтяного загрязнения: микроорганизмы окисляют углеводородные соединения, растворяя или эмульгируя их посредством выделения биосурфактантов; гуминовые кислоты, выступая в качестве матрикса при формировании биопленки, облегчают самопроизвольную адсорбцию микроорганизмов рода *Rhodococcus* на границе нефть – вода.*

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, микроорганизмы-нефтедеструкторы рода *Rhodococcus*, биоконпозиции, нефть, нефтепродукты, биodeградация, детоксикация, коэффициенты детоксикации

### Для цитирования:

Дмитриева Е.Д., Гриневич В.И., Герцен М.М. Дegradация нефти и нефтепродуктов биоконпозициями на основе гуминовых кислот торфов и микроорганизмов-нефтедеструкторов. *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва)*. 2022. Т. LXVI. № 1. С. 42–56

### For citation:

Dmitrieva E.D., Grinevich V.I., Gertsen M.M. Degradation of oil and petroleum products by biocompositions based on humic acids of peats and oil degrading microorganisms. *Ros. Khim. Zh.* 2022. V. LXVI. N 1. P. 42–56

## DEGRADATION OF OIL AND PETROLEUM PRODUCTS BY BIOCOMPOSITIONS BASED ON HUMIC ACIDS OF PEATS AND OIL DEGRADING MICROORGANISMS

E.D. Dmitrieva<sup>1</sup>, V.I. Grinevich<sup>2</sup>, M.M. Gertsen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, The Institute of Natural Sciences, Tula State University, Lenina st., 92, Tula, Russian Federation, 300012

E-mail: dmitrieva\_ed@rambler.ru, mani.gertsen@gmail.com

<sup>2</sup>Department of Industrial Ecology, Faculty of Inorganic Chemistry and Technology, Ivanovo State University of Chemical Technology, Sheremetevsky Ave., 7, Ivanovo, Russian Federation, 153000

E-mail: grin@isuct.ru

*This paper provides a literature review of the use of humic acids in eco-adaptive technologies, biological and biotechnological methods of remediation of environmental objects from oil pollution, and summarizes the results of the research of the development of biocompositions based on peats humic acids and oil degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* for the inactivation of oil and petroleum products in soil and aquatic environments under various abiotic conditions. Biocompositions have an increased dispersing, solubilizing, stabilizing and biodegradable ability in the relation to oil and petroleum products in fresh, salt water and at the low temperatures. The perspective of the combined use of oil degrading bacteria and humic acids in the biocompositions as a biotechnological direction in the development of effective biological products for the destruction of petroleum hydrocarbons is shown. Differences in the inactivating ability of biocompositions in the relation to oil and petroleum products are associated with the ability of strains of microorganisms to form a biofilm on the surface of humic acids. In aquatic environments the most versatile with maximum biodegradability are biocompositions "Humic acids of sphagnum highmoor peat + *R. erythropolis* S67"; "Humic acids of reed fen peat + *R. erythropolis* S67"; "Humic acids of sphagnum highmoor peat + *R. erythropolis* X5". The stabilizing ability of biocompositions is determined by the origin of humic acids and does not depend on the selected bacterial strain. The high biodegradability of biocompositions is due to the synergism of the action of oil degrading bacteria and humic acids in the conditions of oil pollution: microorganisms oxidize hydrocarbon compounds, dissolving or emulsifying them through the release of biosurfactants; humic acids, acting as a matrix during biofilm formation, facilitate the spontaneous adsorption of microorganisms of the genus *Rhodococcus* at the oil-water interface.*

**Key words:** humic acid, oil degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus*, biocompositions, oil, petroleum products, biodegradation, detoxication, detoxification coefficients

### ВВЕДЕНИЕ

Современные темпы развития нефтедобычи и нефтепереработки требуют эффективных методов, позволяющих в короткие сроки нейтрализовать последствия воздействия на почву и водоемы нефти и нефтепродуктов. Восстановление загрязненных углеводородами нефти сточных вод и почвенных сред в настоящее время достигается четырьмя основными способами: механической, химической, физико-химической и биологической очисткой.

Применение комплекса механических, химических и физико-химических способов очистки не всегда приемлемы из-за угрозы вторичного загрязнения. Актуальным является поиск экологически безопасных методов ликвидации последствий

загрязнения нефтяными углеводородами, направленных на усиление метаболической активности микроорганизмов, способных окислять органические токсиканты до безопасных продуктов, используя их в качестве источника углерода и энергии [1]. Современные биопрепараты, применяемые в ремедиационных мероприятиях, подразделяются на две группы: биопрепараты на основе монокультуры штамма нефтеокисляющих микроорганизмов и на основе ассоциаций микроорганизмов. Монобактериальные препараты отличаются узкой специфичностью по отношению к индивидуальным нефтяным углеводородам, небольшим оптимумом интервала pH среды для активности бактерий, солености, температуры и содержания углеводородов. Достоинствами полибактериальных препара-

тов являются повышенные адаптационные и экологические возможности для применения. Эффективность использования биопрепаратов в разных почвенно-климатических зонах обусловлена исключительно физиолого-биохимическими свойствами штаммов: термотолерантность, осмофильность, оптимальные для роста значения рН, способность включать в метаболические процессы разные классы углеводов. Для ускорения процесса биоразложения нефтяных углеводов биопрепаратами дополнительно требуется использование материалов, способных не только связывать данный класс экотоксикантов в нетоксичные комплексы, но и выступать в качестве питательных веществ, способствующих росту и активности местных организмов с дальнейшим продуцированием биосурфактантов для достижения максимальной детоксикации нефтепродуктов. Известно, что гуминовые кислоты, являясь органической матрицей почв, природных вод, торфов [2-4], за счет гидрофобного ароматического каркаса обладают повышенной реакционной способностью по отношению к нефти и ее отдельным компонентам, в частности полициклическим углеводородам (ПАУ), участвуют в процессах самоочищения и снижают экологическую нагрузку нефтяного загрязнения на окружающую среду. Эффективность очистки водных акваторий от нефтяного загрязнения биоремедиационным способом может значительно повыситься при использовании биокомпозиций на основе гуминовых кислот и микроорганизмов-нефтедеструкторов. Действуя в качестве диспергаторов, гуминовые кислоты разрушают нефтяную эмульсию на более мелкие составляющие, доступные для деструкции микроорганизмами. В условиях абиотического стресса, когда замедляются процессы потребления основных питательных веществ микроорганизмами, гуминовые кислоты являются субстратом, поставляющим необходимые компоненты для жизнедеятельности бактерий.

#### ПРИМЕНЕНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ В ЭКОАДАПТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ

Гуминовые кислоты (ГК) – природные полимеры, построенные из ароматического ядра, связанного с остатками сахаров, пептидов, аминокислот, кислот и другими алифатическими соединениями [5-7]. Бурый уголь, торф, некоторые виды почв, морские отложения – основные источники гуминовых кислот, особо обогащены гуминовыми кислотами леонардиты [8-10]. Многолетние исследования выявили принципиальные отличия состава и свойств гуминовых кислот торфа от гуми-

новых кислот, выделенных из других каустобиолитов [11-13]. Известна способность гуминовых кислот торфов снижать поверхностное натяжение на 10-15 мН/м [14], проявляя свойства поверхностно-активных веществ.

В работах [15, 16] показана актуальность использования гуминовых кислот в качестве биологически-активных стимуляторов для улучшения свойств почвенных систем и агентов ремедиации загрязненных природных сред. Стимулирующее действие гуминовых кислот на рост и развитие живых организмов, повышающие их устойчивость к антропогенному влиянию [17, 18], отмечено многими исследователями. Выявлены механизмы защитного действия ГК на живые организмы в условиях абиотических стрессов (высокие температуры, рН, соленость) [18]. Способность ГК облегчать транспорт питательных макро- и микроэлементов в организмы [19], гормоноподобная активность [17-20], участие в окислительно-восстановительных процессах, влияющих на синтез белка и нуклеиновый обмен за счет активации процессов окислительного и фотосинтетического фосфорилирования [21], антиоксидантная активность [18] являются проявлением биологической активности гуминовых кислот.

Гуминовые кислоты вследствие высокой поверхностной активности используются в процессах очистки *in situ* грунтовых вод и почв от органических веществ, например, ПАУ, в качестве промывочных реагентов [22], способствующих солубилизации и мобилизации органических экотоксикантов с загрязненных поверхностей. Сорбция на почвенных частицах ПАУ и диоксинов снижается в результате использования ГК в качестве промывочных агентов [23]. Внесение ГК в загрязненные почвы увеличивает биодоступность полихлорированных бифенилов (ПХБ) и 20 ПАУ [24-25]. Хорошо зарекомендовали себя гуминовые кислоты в качестве промывочного агента для очистки водоносного горизонта от дизельного топлива [18, 26]. Авторами показано, что применение гуминовых кислот увеличивает водную растворимость нефтяных углеводов от 2 до 10 раз, тем самым ускоряя биодеградацию загрязнителей *in situ*, существенно сокращает время полной очистки водоносного горизонта от использованного в эксперименте объема дизельного топлива (с 30 до 5 лет). Обработка гуминовыми препаратами способствует более активному заселению почв микроорганизмами-нефтедеструкторами: (бактерии *Rhodococcus sp.* и дрожжи *Candida sp.*) [27].

Физико-химическое связывание токсикантов, антистрессорное действие ГК, которое проявляется в стимулировании жизнедеятельности растений и микроорганизмов, способности улучшать свойства почв и влиять на миграцию питательных веществ, являются основными компонентами процесса биорекультивации с использованием гуминовых кислот [25]. В настоящее время известно большое количество коммерческих гуминовых препаратов, которые получены по промышленным технологиям из различного органического сырья, обеспечивающего вариативность их свойств, и применяются в качестве органических удобрений, стимуляторов роста растений, восстановителей нарушенных почв и сорбентов токсичных загрязнений [26, 28-30]. На рынке предлагаются гуминоподобные продукты, значительно уступающие гуминовым препаратам в качестве активных агентов в процессе биорекультивации. Однако целенаправленное эффективное применение коммерческих препаратов на основе гуминовых кислот затруднено из-за отсутствия скрининга ГК с целью выявления их детоксицирующих свойств по отношению к тому или иному загрязняющему классу веществ. Сообщается о детоксикации и биоремедиации нефтезагрязненных грунтов гуминово-минеральным комплексом, полученным в результате низкотемпературной механохимической экстракции из различных углей [23, 24]. В работе [30] дана оценка эффективности использования двух гуминовых препаратов бурого угля в технологии биорекультивации по следующим критериям: фитопродуктивность, результат микробиологических и агрохимических исследований, динамика снижения содержания нефтепродуктов в почве. При оценке эффективности четырех гуматов бурого угля были получены аналогичные результаты [29]. Гуминовые препараты бурого угля разных месторождений оказывают различное действие на бактериальные препараты [30]. Один из препаратов ГК во всем диапазоне концентраций (5-100 мг/л) не проявлял детоксицирующего действия по отношению к тест-культуре, два других – только при минимальном их содержании в растворе; не токсичны во всем диапазоне концентраций гуматы, полученные из сапропеля и лигносульфоната, что связано с особенностями фракционного состава ГК различных каустобиолитов.

Противоречивы сообщения различных исследователей об эффективности использования ГК в процессах биodeградации углеводородов нефти: в одних случаях биodeградация нефтяных углеводородов в присутствии ГК увеличивается [31, 32], в других наблюдается обратный эффект [33]. Гуми-

новые кислоты повышают биодоступность связанных с ними углеводородов, так как более целенаправленно переносят комплексы ГК–углеводород к клеткам бактерий, что увеличивает биodeградацию в присутствии ГК нефтяных углеводородов [34, 35]. Ингибирование биodeградации углеводородов нефти происходит при высоких концентрациях ГК, что связано с токсичностью ГК по отношению к микроорганизмам-нефтедеструкторам и малой доступностью нефтяных углеводородов для микроорганизмов из-за связывания их с ГК [36].

В анаэробной среде гуминовые кислоты выступают в качестве акцепторов электронов или электронных челноков различными бактериями [27]. Для аэробных микроорганизмов воздействие гуминовых кислот по-разному влияет на метаболическую активность в целом и на биodeградацию органических загрязнителей в частности. Сообщается, что рост гетеротрофных и нитрифицирующих бактерий стимулируется добавлением гуминовых кислот в питательные среды, этот эффект объясняется изменением характеристик мембраны, приводящим к увеличению поглощения питательных веществ [27]. Воздействие гуминовых кислот способствовало увеличению времени жизни микроорганизмов *Arthrobacter crystallopoietes* [37]. Разложение гомо- и гетероциклических ароматических соединений стимулировалось гуминовыми кислотами, что объясняется повышением скорости поглощения субстрата. Исследование биодоступности органических загрязнителей, в том числе и ПАУ [38], с применением гуминовых кислот показало несколько механизмов влияния ГК на биоремедиацию: повышение растворимости токсикантов, увеличение микробной активности, увеличение популяции микроорганизмов и продуцирование микроорганизмами полезных ферментов для биodeградации. Исследование влияния экстрагируемых гуминовых кислот на плотность бактерий при биоремедиации антрацена в жидких системах показало, что в тестах с гуминовыми кислотами наблюдалось увеличение плотности бактерий в 8 раз даже через 12-15 сут [39]. В тестах, где антрацен был единственным субстратом, увеличение бактериальной популяции обнаружено не было. Присутствие гуминовых кислот стимулирует бактериальное сообщество и его активность, вызывающее увеличение скорости биоремедиации токсикантов.

#### БИОЛОГИЧЕСКИЕ И BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЧИСТКИ ОТ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Перспективным методом очистки нефтезагрязненных почв и акваторий, в экономическом и

экологическом плане является биотехнологический подход, основанный на использовании различных групп микроорганизмов, отличающихся повышенной способностью к биодеградации компонентов нефтей и нефтепродуктов. Поскольку микроорганизмы имеют сравнительно высокий потенциал разрушения ксенобиотиков, проявляют способность к быстрой метаболической перестройке и обмену генетическим материалом, им придается большое значение при разработке путей биоремедиации нефтезагрязненных объектов [40].

Для деградации нефтяных загрязнений в методе биоремедиации активно используют микроорганизмы [41] в следующих подходах: биостимуляция – активация деградирующей способности аборигенной микрофлоры внесением биогенных элементов, кислорода, различных субстратов [42-44]; биоаугментация (биодополнение) – интродукция природных и генноинженерных штаммов-деструкторов чужеродных соединений. При этом обеспечивается преимущественный и избирательный рост тех микроорганизмов, которые способны наиболее эффективно утилизировать данный загрязнитель [45, 46]. «Активизированную» микрофлору вносят в загрязненный объект одновременно с необходимыми добавками, повышающими эффективность утилизации экотоксиканта.

В процессе биоремедиации для расщепления или разложения нефтепродуктов применяются природные микроорганизмы, грибы, дрожжи и бактерии [47], способные не только метаболизировать углеводороды нефти, но одновременно восстанавливать качество окружающей среды [48]. Во многих исследованиях [45-48] сообщается о способности бактерий разлагать углеводороды с различным количеством атомов углерода в цепи. Однако большинство микроорганизмов разлагают только узкий диапазон углеводородов, *Geobacillus jurassicus* растет на C<sub>6</sub>–C<sub>16</sub>, а *Bacillus thermoleovorans* разлагает n-алканы до C<sub>23</sub>. Исключение составляет штамм *Acinetobacter sp.*, разлагающий длинноцепочечные алканы C<sub>13</sub>–C<sub>44</sub> [49].

Основная цель биоремедиации – ускорение процесса естественного разложения углеводородов, благодаря которому микроорганизмы ассимилируют органические молекулы токсикантов в биомассе, разлагая их до углекислого газа, воды и безвредных метаболитов [49, 50]. При длительном восстановлении экосистем, загрязненных нефтепродуктами, биоремедиация является предпочтительной альтернативой, преимуществом которой является экономическая эффективность и экологичность [51, 52].

Исследование бактерий, ответственных за биоремедиацию, показало, что для полноценной биодеградации нефти и нефтепродуктов требуется больше, чем один вид микроорганизмов [53]. Отдельно взятые микроорганизмы способны метаболизировать только частичный диапазон углеводородных субстратов, поэтому для смешивания популяций с общей ферментативной способностью требуется дальнейшее увеличение скорости и степени биодеградации нефти [54]. Доказательством служат обнаруженные в загрязненной нефтью почве и воде микробные штаммы, принадлежащие к различным родам [55]. Предполагается, что каждый штамм или род играет свою роль в процессах конверсии углеводородов [56-57]. Многие виды бактерий определены как потенциальные деструкторы углеводородов [58-61]. Наиболее перспективными микроорганизмами деструкторами нефти являются представители рода *Rhodococcus*, способные продуцировать поверхностно-активные вещества: трегалолипиды с низкой молекулярной массой или экзополисахариды с высокой молекулярной массой, снижающие поверхностное натяжение и увеличивающие биодоступность нерастворимых в воде субстратов [62, 63]. Мембранный состав и поверхностные свойства клеток *Rhodococcus* способны изменяться в ответ на органические субстраты [64].

Кроме традиционных методов, в настоящее время активно разрабатываются новые подходы и технологии, основанные на совместном применении сорбентов и микроорганизмов, позволяющие эффективно бороться с нефтяными загрязнениями. Биосорбционный метод основан на адсорбции нефтяных загрязнений активированным углем, с последующим их окислением биопленкой из микроорганизмов на поверхности сорбента [65]. Следует отметить, что существующие два пути интенсификации биодеградации органических поллютантов в окружающей среде – стимуляция естественной микрофлоры и интродукция активных штаммов не только не противоречат, но и дополняют друг друга.

#### БИОКОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ И МИКРООРГАНИЗМОВ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ РОДА RHODOCOCCLUS ДЛЯ ДЕГРАДАЦИИ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ

В этом обзоре суммированы результаты исследований по разработке биокомпозиций на основе гуминовых кислот торфов и бактерий-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* для инактивации нефтяных углеводородов в почвенных и водных средах, выполненных в Тульском государственном

университете за последние три года. Нами впервые было предложено совместное применение гуминовых кислот и микроорганизмов-нефтедеструкторов в составе биокомпозиций, способных эффективно разлагать углеводороды нефти не только в почве, но и в водных средах при различных абиотических условиях (пониженной температуре (10 °С) и повышенной солености (3 % NaCl)). В качестве микроорганизмов-деструкторов нефти при разработке биокомпозиций использовали штаммы бактерий *Rhodococcus erythropolis* S67, *Rhodococcus erythropolis* X5 [66], продуцирующие поверхностно-активные вещества: низкомолекулярные трегалолипиды или высокомолекулярные экзополисахариды, снижающие поверхностное натяжение и увеличивающие биодоступность нерастворимых в воде субстратов, находящихся как в жидком (керосине) [67], так и твердом (тетрадекане [68] и н-гексадекане [68, 69]) агрегатном состоянии. Известно [70], что при пониженной температуре (10 °С) бактерии рода *Rhodococcus* продуцируют гликолипиды (биоПАВ), представляющие собой смесь изомерных гомологов: 2,3,4-деканойл-октаноилсукцинил-2'-деканойлтрегалозы; 2,3,4-диоктаноил-сукцинил-2'-деканойлтрегалозы; 2,3,4-диоктаноил-сукцинил-2'-октаноилтрегалозы; 2,3,4-дидеканоил-сукцинил-2'-деканойлтрегалозы. Стенки клеток *Rhodococcus* содержат миколиновые кислоты, которые обеспечивают гидрофобные характеристики клеточной поверхности [70]. *Rhodococcus* способны изменять свой мембранный состав и свойства клеточной поверхности в ответ на органические субстраты [70]. Установлено [70], что наиболее эффективно микроорганизмы-нефтедеструкторы рода *Rhodococcus* деградируют гексадекан (более половины) в экспоненциальной фазе роста при 26 °С и 10 °С. Степень биодеградации гексадекана при 26 °С составляла 34-35 % после 3 сут культивирования; через 6 суток при 10 °С деградировано 27-28% гексадекана. Максимально (за 8 сут культивирования при 26 °С) *R. erythropolis* X5 деградируют 53 % гексадекана и 40 % – за 18 сут при 10 °С. Бактерии *R. erythropolis* S67 обладают меньшей биодеградационной способностью: 46% и 30% гексадекана при 26 °С и 10 °С соответственно. При изучении биодеградации гидрофобных субстратов в условиях пониженной температуры (10 °С) [71] выявлено, что бактерии *R. opacus* R7 деградируют 35% н-гексадекана через 14 сут культивирования. Микроорганизмы *R. erythropolis* S67 и *R. erythropolis* X5 способны максимально (до 47 %) деградировать гексадекан при содержании в растворе не бо-

лее 5 % об. Резкое снижение деградации гексадекана бактериями наблюдается при 7 % об, так доля деградации сокращается в 4 раза при его содержании в растворе от 7 % об. до 15 % об., что обусловлено стрессом микроорганизмов в условиях загрязнения и утратой жизнеспособности клеток [72].

Органическая матрица биокомпозиций – гуминовые кислоты (ГК) торфов Тульской области: тростниковый низинный (ТНТ), черноольховый низинный (ЧНТ), сфагновый верховой (СВТ), сфагновый переходный (СПТ) [73]. Нами впервые было установлено, что анализируемые гуминовые кислоты в диапазоне концентраций 25-200 мг/л не оказывают ингибирующего действия на рост штаммов *R. Erythropolis* S67, *R. erythropolis* X5, выступают в качестве источника углерода и азота при различных абиотических условиях; максимальный стимулирующий эффект наблюдается при концентрации 50 мг/л в течение трех суток [74]. Пониженная температура и наличие соли в культуральном растворе в присутствии гуминовых кислот не оказывают существенного влияния на динамику роста штаммов бактерий [75]. Адаптация микроорганизмов к стрессовым условиям обусловлена способностью ГК образовывать защитный ажурный фильтр на поверхности клеток, выступать в роли осмолитов [76] за счет аминокислот и остатков полисахаридов периферической части, стимулировать выработку экзополисахаридов, участвующих в защите клеток от высыхания, а также синтез клеточных липидов, что согласуется с общим механизмом выживания бактерий в холодных условиях.

Впервые выявлена биодеградационная способность биокомпозиций на основе гуминовых кислот и микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* по отношению к гексадекану – модельному объекту легкой фракции нефти при его содержании в растворе от 2 до 20 % об. [77]. Инактивация гексадекана в растворе биокомпозицией «ГК ТНТ + *R. Erythropolys* S67» составляет 95±1 % при его содержании 2 % об. и 37±2 % при 20 % об. Совместное применение ГК ТНТ и *Rhodococcus erythropolis* S67 увеличивает долю связывания гексадекана на 49±1 % (2 % об.) – 20±2% (20 % об.) относительно ГК. Максимальная деструкция гексадекана (2 % об.) биокомпозициями на основе микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* X5 и гуминовых кислот СВТ и СПТ 90 % и 70 % соответственно [77].

Повышенная убыль гексадекана в растворе биокомпозициями обусловлена связыванием алкана гуминовыми кислотами посредством гидрофобных взаимодействий с периферической частью

в нетоксичный комплекс для микроорганизмов [72, 77], за счет поверхностно-активных свойств, повышением растворимости гексадекана, стимулированием роста микроорганизмов и количеством выделяемых ими биоПАВ, а также являться полимерным матриксом, на котором происходит адгезия *R. erythropolis* S67 и формирование активной биопленки, бидеградационная способность которой выше по отношению к гексадекану.

Посредством адгезинов, состоящих из протеиновых и гликопротеиновых субъединиц клеточной стенки, происходит адгезия микроорганизмов *R. erythropolis* S67 на полимерном матриксе – гуминовых кислотах. После прикрепления первоначальное развитие растущего бактериального сообщества осуществляется за счет использования питательных веществ, полученных в результате экзоферментативного разложения гуминовых кислот, и только после формирования биопленки происходит биодegradация гексадекана и выделение триглицеридов (биоПАВ), которые, в свою очередь, вместе с молекулами гуминовых кислот образуют экзобиополимерную матрицу, окружающую биопленку и повышают растворимость гексадекана. Биополимерная матрица удерживается на поверхности посредством внутримолекулярных водородных связей и межмолекулярных сил Ван-дер-Ваальса. Дegradация гексадекана структурированными сообществами микроорганизмов *R. erythropolis* S67 осуществляется эффективнее за счет его концентрирования на поверхности полимерного матрикса.

Нами было определено влияние гуминовых кислот индивидуально [78] и совместно с микроорганизмами рода *Rhodococcus* на состояние пленок модельных нефтепродуктов (гексадекан, дизельное топливо (ДТ), нефть) при различных абиотических условиях. Гуминовые кислоты обладают достаточно высокой поверхностной активностью по отношению к модельным нефтяным углеводородам и могут быть использованы в качестве промывочных поверхностно-активных агентов, аналогов ПАВ и биосурфактантов [79].

Авторами [70] было показано, что штаммы микроорганизмов рода *Rhodococcus* способны био-разлагать от 15 до 26 % нефти при 24 °С в течение 7-10 сут в условиях морских акваторий. Проведенные нами исследования позволили выявить повышенную эмульгирующую и нефтеутилизирующую способность биоконпозиций по отношению к нефтяным углеводородам при различных абиотических условиях. Биоконпозиции способствуют более быстрому растеканию пленок гексадекана и

дизельного топлива в течение первых 2 ч. Через 48 ч на пленках нефтепродуктов наблюдалось появление суспензии, вызванное образованием биопленки за счет роста микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* и выделения ими биоПАВ и одновременное уменьшение на 30-40% площади поверхности, занимаемой нефтепродуктом. Спустя 7 сут пленки гексадекана и ДТ представляют собой, в зависимости от применяемой биоконпозиции, отдельные капли или истонченные пленки с более тонкими краями. Максимальной степенью биодegradации и эмульгирующей способностью не зависимо от условий эксперимента по отношению к гексадекану обладает биоконпозиция «ГК СВТ+ *R. erythropolis* X5». В условиях пониженной температуры подобные свойства проявляет биоконпозиция «ГК СВТ + *R. erythropolis* S67», что связано со способностью штамма *Rhodococcus erythropolis* S67 образовывать биопленки на твердых субстратах, а также одинаковым качественным составом биосурфактантов (сукцинилтриглицеридов), выделяемых бактериями рода *Rhodococcus* не зависимо от температуры культивирования на гидрофобных субстратах [67]. По отношению к ДТ во всех вариантах опытов повышенную биодegradационную и солюбилизующую способность проявляет биоконпозиция «ГК ТНТ + *R. erythropolis* S67»; в условиях повышенной солености и пониженной температуры также хорошие результаты продемонстрировала биоконпозиция «ГК СВТ + *R. erythropolis* S67». Применение биоконпозиций на основе штамма *Rhodococcus erythropolis* X5 вызывает дробление пленок гексадекана и ДТ на мелкие капли. Результатом использования микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* S67 в составе биоконпозиций является получение более тонких, меньших по площади пленок гексадекана и ДТ с сформированной биопленкой на их поверхности, особенно это проявляется в условиях пониженной температуры [70, 80]. Авторами [62, 67] было продемонстрировано увеличение содержания ненасыщенных и метил-разветвленных жирных кислот в клетках бактерий рода *Rhodococcus* при пониженной температуре, что является одним из механизмов адаптации микроорганизмов-нефтедеструкторов к условиям холодного климата.

Наиболее перспективным считается применение разрабатываемых биоконпозиций для диспергирования и солюбилизации пленок нефти. Так уже через 2 ч после внесения биоконпозиций различного состава наблюдается разрыв нефтяной пленки и образование мелких капель, площадь которых составляет не более 50 %, спустя 7 сут на

водной поверхности остаются отдельные мелкие эмульгированные нефтяные капли [109].

В условиях повышенной солености перспективна биоконпозиция «ГК СВТ + *R. erythropolis* S67». Наиболее универсальными с максимальной бидеградационной способностью по отношению к нефти не зависимо от условий и времени проведения эксперимента являются биоконпозиции «ГК СВТ + *R. erythropolis* S67»; «ГК ТНТ + *R. erythropolis* S67»; «ГК СВТ + *R. erythropolis* X5» [109].

Высокая деградационная активность полученных биоконпозиций по отношению к нефтяным углеводородам в водной среде обусловлена синергизмом действия бактерий и ГК в условиях загрязнения. Микроорганизмы окисляют углеводородные соединения, растворяя их или эмульгируя, посредством выделения биосурфактантов. Гуминовые кислоты облегчают самопроизвольную адсорбцию штаммов *Rhodococcus* на границе раздела нефть – вода, создавая структурно-механический барьер вокруг капель нефтепродуктов. Мелкие нефтяные капли, окруженные прочной пленкой адсорбционного слоя из ГК и бактерий, образуют стойкие, трудно расслаивающиеся эмульсии.

Исследована стабилизирующая способность гуминовых кислот [81] и биоконпозиций по отношению к водной эмульсии углеводородов нефти [82]. Критерием стабильности эмульсии углеводородов являлась величина коэффициента пропускания (Т, %), значение которого снижалось с увеличением стабильности системы, что коррелирует с результатами по стабилизирующей способности гуминово-минеральных комплексов [83].

Анализ стабилизирующей способности показал, что биоконпозиции являются более эффективными стабилизаторами эмульсий нефти и нефтепродуктов в воде не зависимо от условий эксперимента по сравнению с гуминовыми кислотами или микроорганизмами. При этом наилучшими стабилизаторами по отношению к нефти и нефтепродуктам являются биоконпозиции: «ГК ТНТ + *R. erythropolis* S67»; «ГК СВТ + *R. Erythropolis* S67»; «ГК ТНТ + *R. erythropolis* X5» и «ГК СВТ + *R. erythropolis* X5». Стабилизирующая способность биоконпозиций определяется происхождением гуминовых кислот [73] и не зависит от выбранного штамма бактерий: величина коэффициента пропускания эмульсий увеличивается для биоконпозиций в ряду ГК ТНТ>ГК СВТ>ГК СПТ>ГК ЧНТ[81].

В соленой воде (3% NaCl) и пресной воде в условиях пониженной температуры (10 °С) биоконпозиции продемонстрировали практически одинаковую стабилизирующую способность, при

этом значения Т (%) значительно ниже данного показателя в пресной воде при комнатной температуре (рис. 1). Стабилизирующая способность биоконпозиций по отношению к модельным углеводородам увеличивается в ряду: гексадекан>ДТ>нефть не зависимо от условий эксперимента [82].

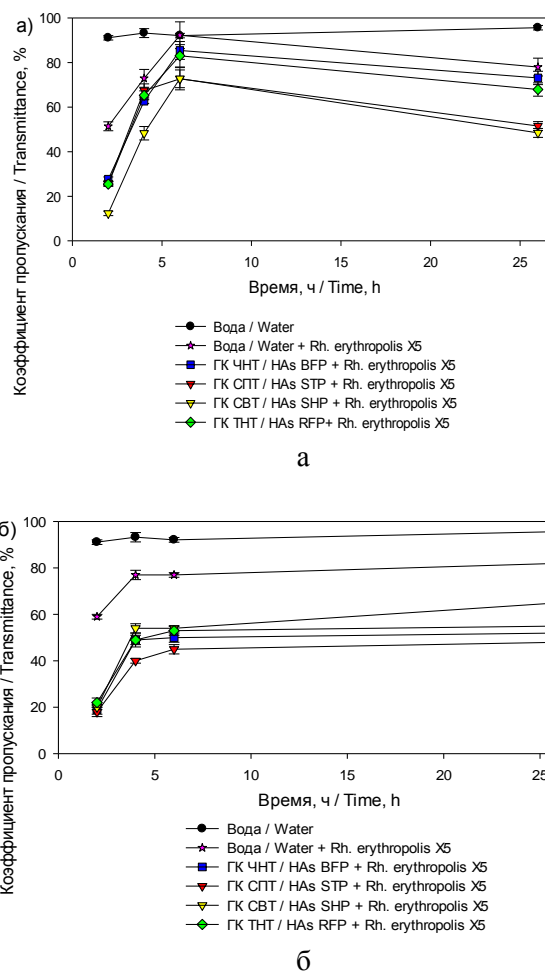


Рис. 1. Стабилизация эмульсии нефти биоконпозициями: а – пресная вода; б – соленая вода

Нами впервые определены количественные характеристики (коэффициенты детоксикации [84-86]) детоксицирующей способности гуминовых кислот [117, 118] и биоконпозиций [114-116, 119] по отношению нефтяным углеводородам. Для оценки прямого воздействия ГК и биоконпозиций на нефть и нефтепродукты проводили эксперименты в водной среде с тест-объектом ряской малой (рис. 2) [84]; на инертном грунте – кварцевый песок [86] и серой лесной почве с тест-объектом кресс-салатом (тест-реакция – биомасса растений).

Универсальными, с повышенными значениями коэффициентов детоксикации являются биоконпозиции «ГК ТНТ + *R. erythropolis* S67»; «ГК



СВТ + *R. Erythropolis S67*»; «ГК ТНТ + *R. erythropolis X5*» и «ГК СВТ + *R. erythropolis X5*»: значения коэффициентов детоксикации по отношению к гексадекану варьируют в диапазоне 82±1-95±2%; дизельному топливу – 69±2-76±2%; нефти – 35±3-47±2% [86, 87]. Снижение токсического эффекта нефти и нефтепродуктов, биокомпозициями обусловлено непосредственным связыванием углеводородов гуминовыми кислотами, их биодеструкцией микроорганизмами рода *Rhodococcus*, а также стимулирующим действием ГК на тест-объект, проявляющимся в повышении сопротивляемости ряски нефтяному загрязнению.

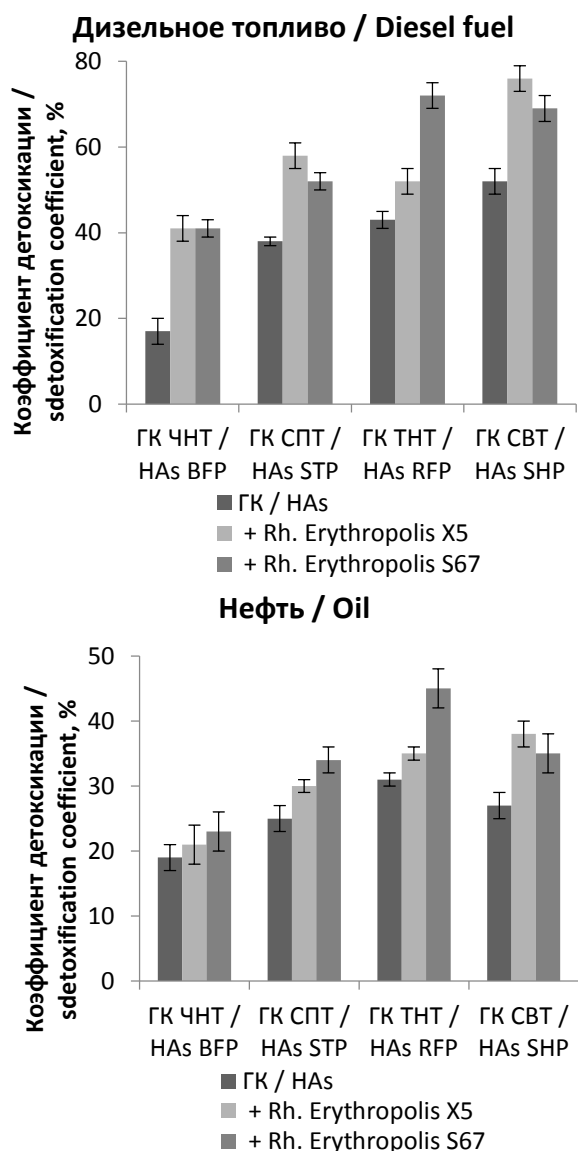


Рис. 2. Детоксирующий эффект гуминовых кислот и биокомпозиций в водной среде

Биокомпозиции проявляют повышенную детоксирующую способность по отношению к

нефтяным углеводородам в почвенных средах [86]. Эффективными детоксирующими агентами по отношению к легкой фракции нефти на инертном субстрате являются биокомпозиции «ГК СВТ + *R. erythropolis S67*», «ГК СПТ + *R. erythropolis S67*» и «ГК СВТ + *R. erythropolis X5*», «ГК СПТ + *R. erythropolis X5*» значения коэффициентов детоксикации 74±2-82±1%; к нефти «ГК ЧНТ + *R. erythropolis X5*» (D 85±2%) и «ГК ТНТ + *R. Erythropolis S67*» (D 60±2%). В экспериментах с серой лесной почвой максимальные значения коэффициентов детоксикации продемонстрировали биокомпозиции «ГК ЧНТ + *R. Erythropolis S67*» и «ГК СВТ + *R. Erythropolis S67*» по отношению к нефти 91±1% и 85±2%; к ДТ 54±2% и 61±2% соответственно. Универсальными для ремедиации почвенных сред от нефтяного загрязнения являются биокомпозиции «ГК ЧНТ + *R. Erythropolis S67*»; «ГК ЧНТ + *R. erythropolis X5*» «ГК СВТ + *R. erythropolis X5*»; «ГК СВТ + *R. erythropolis S67*».

Биодеградационная способность биокомпозиций была протестирована на образцах нефтезагрязненной почвы с высоким (3000±1000 мг/кг) и очень высоким (9000±2000 мг/кг) уровнем загрязнения. Максимальная нефтедеградационная эффективность у биокомпозиций «ГК ТНТ + *R. Erythropolis S67*» и «ГК ТНТ + *R. erythropolis X5*»: количество нефтепродуктов в образце почвы с очень высоким уровнем загрязнения уменьшается до низкого уровня (1000±300 мг/кг). В результате воздействия на образец почвы с высоким уровнем загрязнения биокомпозиции «ГК ТНТ + *R. Erythropolis S67*» содержание нефтепродуктов соответствует допустимому уровню загрязнения (900±100 мг/кг); снижение количества нефтепродуктов в почве составляет от 85±2% до 96±3% [88]. Повышенная биодеградационная способность биокомпозиций связана как со стимулирующим действием ГК по отношению к тест-объектам, микроорганизмам рода *Rhodococcus* – компонентам биокомпозиций и аборигенной микрофлоры почвы, так и детоксирующим действием ГК по отношению к нефтезагрязненным почвам, что позволяет рассматривать полученные биокомпозиции как препараты комплексного действия.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перспективной задачей является разработка безопасных и эффективных экоадаптивных технологий восстановления и очистки почвенных и водных сред от нефти и нефтепродуктов с использованием гуминовых кислот торфов, основанных на предварительном проведении скрининга природного сырья с целью выбора максимально эффективных и универсальных детоксирующих агентов.

Разработка прогностических моделей оценки токсикологической ситуации в условиях загрязнения нефтепродуктами с учетом естественных процессов самоочищения на основе повышенных диспергирующих, соллюбилизирующих, стабилизирующих и детоксицирующих свойств гуминовых кислот, их стимулирующим действием в отношении микроорганизмов-нефтедеструкторов и аборигенной микрофлоры объектов окружающей среды, а также биодegradирующей способностью биокомпозиций по отношению к нефти и нефтепродуктам

в пресной и соленой воде и в условиях пониженной температуры.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Государственного задания FEWG-2020-0008.*

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.*

*The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Леонтьева М.М., Богатырев Ю.В., Сяндюкова К.В., Дмитриева Е.Д. Сорбционная способность гуминовых веществ торфов Тульской области по отношению к ионам цинка. Известия ТулГУ. Естественные науки. 2017. Вып. 1. С. 49–57.
2. Попов А.И. Гуминовые вещества: свойства, строение, образование. СПб.: Изд-во С. Петерб. ун-та. 2004. 248 с.
3. Орлов Д.С. Химия почв. М.: Изд-во Моск. ун-та. 1992. 295 с.
4. Семенов В.М., Тулина А.С., Семенова Н.А., Иванникова Л.А. Гумификационные и негумификационные пути стабилизации органического вещества в почве. Почвоведение. 2013. № 4. С. 393–407. DOI:10.7868/S0032180X13040114.
5. Proidakov A. G. Humic acids from mechanically treated coals: A review. Solid Fuel Chem. 2009. V. 43. N 1. P. 9–14. DOI:10.3103/S0361521909010030.
6. Romaris-Hortas V., Moreda-Pineiro A., Bermejo-Barrera P. Application of microwave energy to speed up the alkaline extraction of humic and fulvic acids from marine sediments. Anal Chim Acta. 2007. V. 602. P. 202–210. DOI:10.1016/j.aca.2007.09.022.
7. Schulten H. R., Schnitzer M. A state of the art structural concept for humic substances. Naturwissenschaften. 1993. V. 80. P. 29–30. DOI:10.1007/BF01139754.
8. Shirshova L.T., Ghabbour E.A., Davies G. Fluorescence spectroscopy studies of humic substance fractions isolated from permanently frozen sediments of Yakutian coastal lowlands. Geoderma. 2006. V. 133. P. 204–216. DOI:10.1016/j.geoderma.2008.11.026.
9. Jezierski A., Czechowski F., Jerzykiewicz M., Drozd J. EPR investigations of structure of humic acids from compost, soil, peat and soft brown coal upon oxidation and metal uptake. Appl Magnetic Resonance. 2000. V. 18. P. 127–128. DOI:10.1007/BF03162104.
10. Martyniuk I., Więckowska J. Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals. Fuel Processing Technology. 2003. V. 84. P. 23–36. DOI:10.1016/S0378-3820(02)00246-1.
11. Гостищева М.В., Федько И.В., Щеголихина А.И. Оценка молекулярных параметров гуминовых кислот торфов, полученных разными способами. Новые достижения в создании лекарственных средств. 2006. С. 71–74.
12. Ковтун А.И., Хилько С.Л., Лиштван И.И. Гуминовые кислоты торфа и препараты на их основе. Природопользование. 2004. № 10. С. 114–119.
13. Лиштван И. И. Фракции гуминовых кислот торфа и их свойства. Природопользование. 1996. № 1. С. 4–6.
14. Иванов А.А., Мальцева Е.В., Юдина Н.В., Матис Е.Я. Строение гуминовых кислот и природа их адсорбционной способности по отношению к биоцидам. Труды IV Всероссийской конференции «Гуминовые вещества в биосфере». 2007. С. 447–455.

## REFERENCES

1. Leonteva M.M., Bogatyrev Yu. V., Syundyukova K.V., Dmitrieva E.D. Sorption ability of humic substances from different origin peats of the tula region in relation to zinc ions. Izvestiya TulGU. Estestvennye nauki. 2017. V. 1. P. 49–57 (In Russian).
2. Popov A.I. Humic substances: properties, structure, formation. SPb.: Izd-vo S. Peterb. un-ta. 2004. 248 p. (In Russian).
3. Orlov D.S. Soil chemistry. M.: Izd-voMosk. un-ta. 1992. 295 p. (In Russian).
4. Semenov V.M., Tulina A.S., Semenova N.A., Ivannikova L.A. Humification and non-humification ways of stabilizing organic matter in soil. Pochvovedenie. 2013. N 4. P. 393–407. DOI:10.7868/S0032180X13040114. (In Russian).
5. Proidakov A. G. Humic acids from mechanically treated coals: A review. Solid Fuel Chem. 2009. V. 43. N 1. P. 9–14. DOI: 10.3103/S0361521909010030.
6. Romaris-Hortas V., Moreda-Pineiro A., Bermejo-Barrera P. Application of microwave energy to speed up the alkaline extraction of humic and fulvic acids from marine sediments. Anal ChimActa. 2007. V. 602. P. 202–210. DOI:10.1016/j.aca.2007.09.022.
7. Schulten H. R., Schnitzer M. A state of the art structural concept for humic substances. Naturwissenschaften. 1993. V. 80. P. 29–30. DOI:10.1007/BF01139754.
8. Shirshova L.T., Ghabbour E.A., Davies G. Fluorescence spectroscopy studies of humic substance fractions isolated from permanently frozen sediments of Yakutian coastal lowlands. Geoderma. 2006. V. 133. P. 204–216. DOI:10.1016/j.geoderma.2008.11.026.
9. Jezierski A., Czechowski F., Jerzykiewicz M., Drozd J. EPR investigations of structure of humic acids from compost, soil, peat and soft brown coal upon oxidation and metal uptake. Appl Magnetic Resonance. 2000. V. 18. P. 127–128. DOI:10.1007/BF03162104.
10. Martyniuk I., Więckowska J. Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals. Fuel Processing Technology. 2003. V. 84. P. 23–36. DOI:10.1016/S0378-3820(02)00246-1.
11. Gostishcheva M.V., Fedko I.V., Shchegolikina A.I. Evaluation of the molecular parameters of humic acids in peat obtained by different methods. Novye dostizheniya v sozdanii lekarstvennykh sredstv. 2006. P. 71–74. (In Russian).
12. Kovtun A.I., Khilko S.L., Lishtvan I.I. Humic acids of peat and preparations based on them. Prirodopolzovanie. 2004. N 10. P. 114–119. (In Russian).
13. Lishtvan I.I. Fractions of humic acids of peat and their properties Prirodopolzovanie. 1996. N 1. P. 4–6. (In Russian).
14. Ivanov A.A., Maltseva E.V., Yudina N.V., Matis E.Ya. The structure of humic acids and the nature of their adsorption capacity in relation to biocides. Trudy IV Vserossiyskoy konferentsii «Guminovye veshchestva v biosfere». 2007. P. 447–455. (In Russian).

15. Канискин М.А., Изосимов А.А., Терехова В.А., Якименко О.С., Пукальчик М.А. Влияние гуминовых препаратов на биоактивность почвогрунта с фосфогипсом. Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 1. С. 87–95.
16. Якименко О.С., Терехова В.А. Гуминовые препараты и оценка их биологической активности для целей сертификации. Почвоведение. 2011. № 11. С. 1334–1343.
17. Kulikova N.A., Davidchik V.N., Tsvetkova E.A., Koroleva O.V. Interaction of coal humic acids with fungallac case. Adv. Microbiol. 2013. V. 3. P. 145–153. DOI:10.4236/aim.2013.32023.
18. Кляйн О.И., Куликова Н.А., Степанова Е.В. Получение и характеристика биологической активности биопрепаратов, полученных при биосолубилизации бурого угля базидиальными грибами белой гнили. Биотехнология. 2013. Т. 4. С. 65–83.
19. Canellas L.P., Zandonodi D.B., Busato J.G. Bioactivity and chemical characteristics of humic acids from tropical soils sequence. Soil Science. 2008. V. 173. N 9. P. 624–637.
20. Корнилаева Г.В., Перминова И.В., Гилязова А.В. Гуминовые вещества как перспективные соединения для создания микробицидных препаратов. Российский иммунологический журнал. 2010. Т. 4. №3. С. 255–260.
21. Haritash A.K., Kaushik C.P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): are view. J. Hazard. Mater. 2009. V. 169. N 1–3. P. 1–15. DOI:10.1016/j.jhazmat.2009.03.137.
22. TR 002–13787869–2013. Ремедиация нефтезагрязненных почв, грунтов и буровых шламов с использованием препарата «Гумиком». 2014. 78 с.
23. Бамбалов Н.Н., Смирнова В.В., Немкович А.С. Технологические показатели эффективности процесса экстракции гуминовых веществ при разных соотношениях торфа и экстрагента. Природопользование. 2012. № 21. С. 244–247.
24. Красноберская О.Г., Соколов Г.А., Симакина И.В. Сравнительная оценка биологической активности гуминовых веществ торфа, выделенных разными способами. Природопользование. 2012. № 21. С. 249–254.
25. Холодов В.А., Бутнева И.А., Гречищева Н.Ю. Влияние способов очистки на структуру и выход гуминовых кислот при их извлечении из типичного чернозема. Агрохимический вестник. 2008. № 5. С. 31–33.
26. Вайсман Я.И., Глушанкова И.С., Рудакова Л.В. Разработка технологии ремедиации нефтезагрязненных почв и грунтов с использованием гуминового препарата «Гумиком». Нефтяное хозяйство. 2013. № 10. С. 128–131.
27. Kim D., Choi K.Y., Yoo M., Zylstra G., Kim E. Biotechnological potential of Rhodococcus biodegradative pathways. J. Microbiol. Biotechnol. 2018. V. 28. N 7. P. 1037–1051. DOI:10.4014/jmb.1712.12017.
28. Шайдуллина И.А., Антонов Н.А., Колесникова Н.Е. Испытание новых биотехнологий рекультивации нефтезагрязнённых земель в условиях ОАО «Татнефть». Материалы научной сессии ученых Альметьевского государственного нефтяного института. 2013. № 1. С. 168–173.
29. Ивасишин П.Л., Марютина Т.А., Савовина Е.Ю. Эффективность применения биопрепаратов, гуматов и сорбентов для снижения остаточного содержания нефтепродуктов в торфах при рекультивации. Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2011. № 5. С. 19–23.
30. Якименко О.С., Терехова В.А. Гуминовые препараты и оценка их биологической активности для целей сертификации. Почвоведение. 2011. № 11. С. 1334–1343.
15. Kaniskin M.A., Izosimov A.A., Terekhova V.A., Yakimenko O.S., Pukalchik M.A. Influence of humic preparations on the bioactivity of soil with phosphogypsum. Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2011. N 1. P. 87–95. (In Russian).
16. Yakimenko O.S., Terekhova V.A. Humic preparations and assessment of their biological activity for certification purposes. Pochvovedenie. 2011. N 11. P. 1334–1343. (In Russian).
17. Kulikova N.A., Davidchik V.N., Tsvetkova E.A., Koroleva O.V. Interaction of coal humic acids with fungal laccase. Adv. Microbiol. 2013. V. 3. P. 145–153. DOI:10.4236/aim.2013.32023.
18. Klyayn O.I., Kulikova N.A., Stepanova E.V. Obtaining and characterization of biological activity of biological products obtained by biosolubilization of brown coal with white rot basidiomycetes. Biotekhnologiya. 2013. V. 4. P. 65–83. (In Russian).
19. Canellas L.P., Zandonodi D.B., Busato J.G. Bioactivity and chemical characteristics of humic acids from tropical soils sequence. Soil Science. 2008. V. 173. N 9. P. 624–637.
20. Kornilaeva G.V., Perminova I.V., Gilyazova A.V. Humic substances as promising compounds for the creation of microbicide preparations. Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal. 2010. V. 4. N 3. P. 255–260. (In Russian).
21. Haritash A.K., Kaushik C.P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. J. Hazard. Mater. 2009. V. 169. N 1–3. P. 1–15. DOI:10.1016/j.jhazmat.2009.03.137.
22. TR 002–13787869–2013. Remediation of oil-contaminated soils, soils and drill cuttings using the drug "Gumikom". 2014. 78 p. (In Russian).
23. Bambalov N.N., Smirnova V.V., Nemkovich A.S. Technological indicators of the efficiency of the extraction of humic substances at different ratios of peat and extractant. Prirodopolzovanie. 2012. N 21. P. 244–247. (In Russian).
24. Krasnoberskaya O.G., Sokolov G.A., Simakina I.V. Comparative assessment of the biological activity of peat humic substances isolated by different methods. Prirodopolzovanie. 2012. N 21. P. 249–254. (In Russian).
25. Kholodov V.A., Butneva I.A., Grechishcheva N. Yu. Influence of purification methods on the structure and yield of humic acids during their extraction from typical chernozem. Agrokhimicheskii vestnik. 2008. N 5. P. 31–33. (In Russian).
26. Vaysman Ya.I., Glushankova I.S., Rudakova L.V. Development of technology for remediation of oil-contaminated soils and grounds using the humic preparation "Gumikom". Neftyanoe hozyaystvo. 2013. N 10. P. 128–131. (In Russian).
27. Kim D., Choi K.Y., Yoo M., Zylstra G., Kim E. Biotechnological potential of Rhodococcus biodegradative pathways. J. Microbiol. Biotechnol. 2018. V. 28. N 7. P. 1037–1051. DOI:10.4014/jmb.1712.12017.
28. Shaydullina I.A., Antonov N.A., Kolesnikova N.E. Testing of new biotechnologies for the reclamation of oil-contaminated lands in the conditions of OAO TATNEFT. Materialy nauchnoy sessii uchenykh Almetevskogo gosudarstvennogo neftyanogo instituta. 2013. N 1. P. 168–173. (In Russian).
29. Ivashishin P.L., Maryutina T.A., Savovina E.Yu. The effectiveness of the use of biological products, humates and sorbents to reduce the residual content of petroleum products in peats during reclamation. Zashchita okruzhayushchey sredy v neftegazovom komplekse. 2011. N 5. P. 19–23. (In Russian).
30. Yakimenko O.S., Terekhova V.A. Humic preparations and assessment of their biological activity for certification purposes. Pochvovedenie. 2011. N 11. P. 1334–1343. (In Russian).

31. *Burgos W.D., Pisutpaisal N., Tuntoolavest M.* Biodegradation of 1-naphthol in the presence of humic acid. *Environ. Eng. Sci.* 2000. V. 17. P. 343–351. DOI: 10.1089/ees.2000.17.343.
32. *Laor Y., Strom P.F., Farmer W.J.* Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. *Water Res.* 1999. V. 33. P. 1719–1729.
33. *Ortega-Calvo J.J., Saiz-Jimenez C.* Effect of humic fractions and clay on biodegradation of phenanthrene by a *Pseudomonas fluorescens* Strain isolated from soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. V. 64. N 8. P. 3123–3126.
34. *Kastner M., Mahro B.* Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1996. V. 44. N 5. P. 668–675.
35. *Smith K.E., Thullner M., Wick L.Y., Harms H.* Sorption to humic acids enhances polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation. *Environ. Sci. Technol.* 2009. V. 43. N 19. P. 7205–7211. DOI:10.1021/es803661s.
36. *Puglisi E., Cappa F., Fraquolis G.* Bioavailability and degradation of phenanthrene in compost amended soils. *Chemosphere.* 2007. V. 67. N 3. P. 548–556. DOI:10.1016/j.chemosphere.2006.09.058.
37. *Hoffmann K., Popawski D., Huculak-Mczka M.* Assessment of efficiency of humic acids extraction process using different fineness of lignite. *ECOL Chem.* 2010. V. 4. N 2. P. 377–381.
38. *Щукина В.Д., Холодов В.А., Парфенова А.М., Лазарева Е.В., Перминова И.В.* Стабилизирующее действие гуминово-глинистых комплексов на формирование прямых водонефтяных эмульсий в морской воде. *Химическая физика и строение вещества, к 90-летию В.И. Гольданского.* 2013. С. 101–104.
39. *Terashimaa M., Fukushima M., Tanakaa S.* Influence of pH on the surface activity of humic acid: micelle-like aggregate formation and interfacial adsorption. *Colloids and Surfaces. A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2004. V. 247. P. 77–83. DOI:10.1016/J.COLSURFA.2004.08.028.
40. *Фунтикова Т.В., Пунтус И.Ф., Ахметов Л.И., Анпазов Н.О., Нарманова Р.А., Филонов А.Е.* Деградационные свойства микроорганизмов, утилизирующих углеводороды нефти в широком температурном диапазоне. *Actual science.* 2015. Т. 1. № 3. С. 18–19.
41. *Sharma A., Mishra M., Shukla A.K., Kumar R., Abdin M.Z., Chowdhuri D.K.* Organochlorine pesticide, endosulfan induced cellular and organismal response in *Drosophila melanogaster*. *J. Hazard. Mater.* 2012. V. 221–222. P. 275–287. DOI:10.1016/j.jhazmat.2012.04.045.
42. *Al-Hawash A.B., Alkoorenee J.T., Abbood H.A., Zhang J., Sun J., Zhang X., Ma F.* Isolation and characterization of two crude oil-degrading fungi strains from Rumaila oil field. *Iraq. Biotechnol. Rep.* 2018. V. 17. P. 104–109. DOI:10.1016/j.btre.2017.12.006.
43. *Panda S., Kar R., Panda C.* Isolation and identification of petroleum hydrocarbon degrading microorganisms from oil contaminated environment. *International Journal of Environmental Science Technology.* 2013. V. 3. N 5. P. 1314–1321.
44. *Lee C.H., Shin H.S., Kang K.H.* Chemical and spectroscopic characterization of peat moss and its different humic fractions (Humin, Humic acid and fulvic acid). *Journal of Soil and Groundwater.* 2004. V. 9. N 4. P. 42–51.
45. *Liu S., Guo C., Liang X., Wu F., Dang Z.* Nonionic surfactants induced changes in cell characteristics and phenanthrene degradation ability of *Sphingomonas* sp. GY2B. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2016. V. 129. P. 210–218. DOI:10.1016/j.ecoenv.2016.03.035.
31. *Burgos W.D., Pisutpaisal N., Tuntoolavest M.* Biodegradation of 1-naphthol in the presence of humic acid. *Environ. Eng. Sci.* 2000. V. 17. P. 343–351. DOI:10.1089/ees.2000.17.343.
32. *Laor Y., Strom P.F., Farmer W.J.* Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. *Water Res.* 1999. V. 33. P. 1719–1729.
33. *Ortega-Calvo J.J., Saiz-Jimenez C.* Effect of humic fractions and clay on biodegradation of phenanthrene by a *Pseudomonas fluorescens* Strain isolated from soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. V. 64. N 8. P. 3123–3126.
34. *Kastner M., Mahro B.* Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1996. V. 44. N 5. P. 668–675.
35. *Smith K.E., Thullner M., Wick L.Y., Harms H.* Sorption to humic acids enhances polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation. *Environ. Sci. Technol.* 2009. V. 43. N 19. P. 7205–7211. DOI:10.1021/es803661s.
36. *Puglisi E., Cappa F., Fraquolis G.* Bioavailability and degradation of phenanthrene in compost amended soils. *Chemosphere.* 2007. V. 67. N 3. P. 548–556. DOI:10.1016/j.chemosphere.2006.09.058.
37. *Hoffmann K., Popawski D., Huculak-Mczka M.* Assessment of efficiency of humic acids extraction process using different fineness of lignite. *ECOL Chem.* 2010. V. 4. N 2. P. 377–381.
38. *Shchukina V.D., Kholodov V.A., Parfenova A.M., Lazareva E.V., Perminova I.V.* Stabilizing effect of humic-clay complexes on the formation of direct oil-water emulsions in seawater. *Khimicheskaya fizika i stroenie veshchestva, k 90-letiyu V.I. Goldanskogo.* 2013. P. 101–104. (In Russian).
39. *Terashimaa M., Fukushima M., Tanakaa S.* Influence of pH on the surface activity of humic acid: micelle-like aggregate formation and interfacial adsorption. *Colloids and Surfaces. A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2004. V. 247. P. 77–83. DOI:10.1016/J.COLSURFA.2004.08.028.
40. *Funtikova T.V., Puntus I.F., Akhmetov L.I., Appazov N.O., Narmanova R.A., Filonov A.E.* Properties of microorganisms able to degradation of oil hydrocarbons in a wide temperature range. *Actual science.* 2015. V. 1. N 3. P. 18–19. (In Russian).
41. *Sharma A., Mishra M., Shukla A.K., Kumar R., Abdin M.Z., Chowdhuri D.K.* Organochlorine pesticide, endosulfan induced cellular and organismal response in *Drosophila melanogaster*. *J. Hazard. Mater.* 2012. V. 221–222. P. 275–287. DOI:10.1016/j.jhazmat.2012.04.045.
42. *Al-Hawash A.B., Alkoorenee J.T., Abbood H.A., Zhang J., Sun J., Zhang X., Ma F.* Isolation and characterization of two crude oil-degrading fungi strains from Rumaila oil field. *Iraq. Biotechnol. Rep.* 2018. V. 17. P. 104–109. DOI:10.1016/j.btre.2017.12.006.
43. *Panda S., Kar R., Panda C.* Isolation and identification of petroleum hydrocarbon degrading microorganisms from oil contaminated environment. *International Journal of Environmental Science Technology.* 2013. V. 3. N 5. P. 1314–1321.
44. *Lee C.H., Shin H.S., Kang K.H.* Chemical and spectroscopic characterization of peat moss and its different humic fractions (Humin, Humic acid and fulvic acid). *Journal of Soil and Groundwater.* 2004. V. 9. N 4. P. 42–51.
45. *Liu S., Guo C., Liang X., Wu F., Dang Z.* Nonionic surfactants induced changes in cell characteristics and phenanthrene degradation ability of *Sphingomonas* sp. GY2B. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2016. V. 129. P. 210–218. DOI:10.1016/j.ecoenv.2016.03.035.
46. *Varjani S.J., Gansounou E.* Microbial dynamics in petroleum oilfields and their relationship with physiological properties of petroleum oil reservoirs. *Bioresour. Technol.* 2017. V. 245. P. 1258–1265. DOI:10.1016/j.biortech.2017.08.028.

46. *Varjani S.J., Gansounou E.* Microbial dynamics in petroleum oilfields and their relationship with physiological properties of petroleum oil reservoirs. *Bioresour. Technol.* 2017. V. 245. P. 1258–1265. DOI:10.1016/j.biortech.2017.08.028.
47. *Yakimov M.M., Timmis K.N., Golyshin P.N.* Obligate oil-degrading marine bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007. V. 18. P. 257–266. DOI:10.1016/j.copbio.2007.04.006.
48. *Maiti A., Das S., Bhaacharyya N.* Isolation and characterization of a new bacterial strain from petroleum oil contaminated soil, India. *Journal of Science.* 2012. V. 2. N 2. P. 103–108.
49. *Zhen-Yu W., Ying X.U., Hao-Yun W., Jian Z., Dong-Mei G., Li F.M., Xing B.* Biodegradation of crude oil in contaminated soils by free and immobilized microorganisms. *Pedosphere.* 2012. V. 22. N 5. P. 717–725. DOI:10.1016/S1002-0160(12)60057-5.
50. *Das K., Mukherjee A.K.* Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. *Bioresour. Technol.* 2007. V. 98. P. 1339–1345. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.05.032.
51. *Husaini A., Roslan H.A., Hii K.S.Y., Ang C.H.* Biodegradation of aliphatic hydrocarbon by indigenous fungi isolated from used motor oil contaminated sites. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2008. V. 24. P. 2789–2797. DOI:10.1007/s11274-008-9806-3.
52. *Moutsatsou A., Gregou M., Matsas D., Protonotarios V.* Washing as a remediation technology applicable in soils heavily polluted by mining-metallurgical activities. *Chemosphere.* 2006. V. 63. P. 1632–1640. DOI:10.1016/j.chemosphere.2005.10.015.
53. *Calvillo Y.M., Alexander M.* Mechanism of microbial utilization of biphenyl sorbed to polyacrylic beads. *Appl. Microb. Biotechnol.* 1996. V. 45. N 3. P. 383–390. DOI:10.1007/s002530050700.
54. *Foster J.W.* Hydrocarbons as substrate for microorganisms. *J. Microbiol. Serol.* 1962. V. 28. P. 241–274.
55. *Gröttschel S., Köster J., Abed R.M.M., de Beer D.* Degradation of petroleum model compounds immobilized on clay by a hypersaline microbial material. *Biodegradation.* 2002. V. 13. N 4. P. 273–283. DOI:10.1023/a:1021263009377.
56. *Plaza C., Xing B., Fernandez J.M.* Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by humic acids formed during composting. *Environmental Pollution.* 2009. V. 157. N 1. P. 257–263. DOI: 10.1016/j.envpol.2008.07.016.
57. *Jobson A., Cook F.D., Westlake D.W.S.* Microbial utilization of crude oil. *Appl. Microbiol.* 1972. V. 23. P. 1082–1089. DOI:10.1128/AEM.23.6.1082-1089.1972.
58. *Filip Z., Demnerova K.* Humic substances as a natural factor lowering ecological risk in estuaries. *Environmental Security in Harbors and Coastal Areas.* 2007. P. 343–353.
59. *Nebbioso A., Piccolo A.* Basis of a Humeomics Science: Chemical Fractionation and Molecular Characterization of Humic Biosuprastructures. *Biomacromolecules.* 2011. V. 12. N 4. P. 1187–1199. DOI:10.1021/bm101488e.
60. *Uhlik O., Wald J., Strejcek M., Musilova L., Ridl J., Hroudova M., Macek T.* Identification of Bacteria Utilizing Biphenyl, Benzoate, and Naphthalene in Long-Term Contaminated Soil. *PLoS ONE.* 2012. V. 7. N 7. P. 1–10. DOI:10.1371/journal.pone.0040653.
61. *Lia B., Zhanga X., Guoa F., Wub W., Zhang T.* Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-through put sequencing analysis. *Water research.* 2013. V. 47. P. 4207–4216. DOI:10.1016/j.watres.2013.04.021.
62. *Рубцова Е.В., Криворучко А.В., Яруллина Д.Р., Богачев М.И., Ким А.С., Кузюкина М.С., Ившина И.Б.* Влияние физико-химических свойств актинобактерий рода *Rhodococcus* на их адгезию к полистиролу и н-гексадекану. *Фундаментальные исследования.* 2013. № 4. С. 900–904.
47. *Yakimov M.M., Timmis K.N., Golyshin P.N.* Obligate oil-degrading marine bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007. V. 18. P. 257–266. DOI:10.1016/j.copbio.2007.04.006.
48. *Maiti A., Das S., Bhaacharyya N.* Isolation and characterization of a new bacterial strain from petroleum oil contaminated soil, India. *Journal of Science.* 2012. V. 2. N 2. P. 103–108.
49. *Zhen-Yu W., Ying X.U., Hao-Yun W., Jian Z., Dong-Mei G., Li F.M., Xing B.* Biodegradation of crude oil in contaminated soils by free and immobilized microorganisms. *Pedosphere.* 2012. V. 22. N 5. P. 717–725. DOI:10.1016/S1002-0160(12)60057-5.
50. *Das K., Mukherjee A.K.* Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. *Bioresour. Technol.* 2007. V. 98. P. 1339–1345. DOI:10.1016/j.biortech.2006.05.032.
51. *Husaini A., Roslan H.A., Hii K.S.Y., Ang C.H.* Biodegradation of aliphatic hydrocarbon by indigenous fungi isolated from used motor oil contaminated sites. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2008. V. 24. P. 2789–2797. DOI:10.1007/s11274-008-9806-3.
52. *Moutsatsou A., Gregou M., Matsas D., Protonotarios V.* Washing as a remediation technology applicable in soils heavily polluted by mining-metallurgical activities. *Chemosphere.* 2006. V. 63. P. 1632–1640. DOI:10.1016/j.chemosphere.2005.10.015.
53. *Calvillo Y.M., Alexander M.* Mechanism of microbial utilization of biphenyl sorbed to polyacrylic beads. *Appl. Microb. Biotechnol.* 1996. V. 45. N 3. P. 383–390. DOI:10.1007/s002530050700.
54. *Foster J.W.* Hydrocarbons as substrate for microorganisms. *J. Microbiol. Serol.* 1962. V. 28. P. 241–274.
55. *Gröttschel S., Köster J., Abed R.M.M., de Beer D.* Degradation of petroleum model compounds immobilized on clay by a hypersaline microbial material. *Biodegradation.* 2002. V. 13. N 4. P. 273–283. DOI:10.1023/a:1021263009377.
56. *Plaza C., Xing B., Fernandez J.M.* Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by humic acids formed during composting. *Environmental Pollution.* 2009. V. 157. N 1. P. 257–263. DOI:10.1016/j.envpol.2008.07.016.
57. *Jobson A., Cook F.D., Westlake D.W.S.* Microbial utilization of crude oil. *Appl. Microbiol.* 1972. V. 23. P. 1082–1089. DOI:10.1128/AEM.23.6.1082-1089.1972.
58. *Filip Z., Demnerova K.* Humic substances as a natural factor lowering ecological risk in estuaries. *Environmental Security in Harbors and Coastal Areas.* 2007. P. 343–353.
59. *Nebbioso A., Piccolo A.* Basis of a Humeomics Science: Chemical Fractionation and Molecular Characterization of Humic Biosupra structures. *Biomacromolecules.* 2011. V. 12. N 4. P. 1187–1199. DOI:10.1021/bm101488e.
60. *Uhlik O., Wald J., Strejcek M., Musilova L., Ridl J., Hroudova M., Macek T.* Identification of Bacteria Utilizing Biphenyl, Benzoate, and Naphthalene in Long-Term Contaminated Soil. *PLoS ONE.* 2012. V. 7. N 7. P. 1–10. DOI: 10.1371/journal.pone.0040653.
61. *Lia B., Zhanga X., Guoa F., Wub W., Zhang T.* Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-through put sequencing analysis. *Water research.* 2013. V. 47. P. 4207–4216. DOI:10.1016/j.watres.2013.04.021.
62. *Rubtsova E.V., Krivoruchko A.V., Yarullina D.R., Bogachev M.I., Kim A.S., Kuzukina M.S., Ivshina I.B.* The effect of physical-chemical properties of *Rhodococcus* actinobacteria on their adhesion to polystyrene and n-hexadecane. *Fundamentalnye issledovaniya.* 2013. N 4. P. 900–904. (In Russian).

63. Perry C.T., Berkeley A., Smithers S.G. Microfacies characteristics of a tropical, mangrove-fringed shoreline, Cleveland Bay, Queensland, Australia: sedimentary and taphonomic controls on mangrove facies development. *J Sediment Res.* 2008. V. 78. P. 77–97. DOI:10.2110/jsr.2008.015.
64. De Carvalho A.A.T., Mantovani H.C., Paiva A.D., De Melo M.R. The effect of carbon and nitrogen sources on bovicin HC5 production by *Streptococcus* HC5. *J. App. Mic.* 2009. V. 107. N 1. P. 339–347. DOI:10.1111/j.1365-2672.2009.04212.x.
65. Швецов В.Н., Морозова К.М., Семенов М.Ю., Пушиников М.Ю., Степанов А.С., Никуфоров С.Е. Очистка нефтесодержащих сточных вод биомембранными методами. Водоснабжение и санитарная техника. 2008. № 3. С. 39–42.
66. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Utilization of hexadecane by biocomposition based on humic acids of peats and oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* in aqueous media. *Moroccan Journal of Chemistry.* 2020. V. 8. N 2. P. 392–399.
67. Dang N.P., Landfald B., Willassen N.P. Biological surface-active compounds from marine bacteria. *Environ. Technol.* 2015. V. 37. N 9. P. 1151–1158. DOI: 10.1080/09593330.2015.1103784.
68. Беляков А.Ю., Пleshakova E.B. Скрининг микроорганизмов-деструкторов компонентов буровых растворов. Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2013. Т. 13. № 4. С. 37–42.
69. Бердичевская М. В. Особенности физиологии родококков разрабатываемых нефтяных залежей. *Микробиология.* 1989. Т. 58. № 1. С. 60–65.
70. Нечаева И.А., Лыонг Т.М., Сатина В.Э. Влияние физиологических особенностей бактерий рода *Rhodococcus* на деградацию n-гексадекана. *Известия ТулГУ. Естественные науки.* 2016. Вып. 1. С. 90–98.
71. Zampolli J., Collina E., Lasagni M., Gennaro P. Biodegradation of variable-chain-length n-alkanes in *Rhodococcus opacus* R7 and the involvement of an alkane hydroxylase system in the metabolism. *Applied and Environmental Microbiology.* 2014. V. 4. N 73. P. 1–9. DOI:10.1186/s13568-014-0073-4.
72. Каримова В.Т., Дмитриева Е.Д. Связывающая способность гуминовых веществ торфов Тульской области в присутствии микроорганизмов нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* по отношению к гексадекану. *Вестник ТвГУ. Серия: Химия.* 2018. № 2. С. 145–157.
73. Дмитриева Е.Д., Леонтьева М.М., Осина К.В. Физико-химические свойства гуминовых веществ торфов Тульской области. *Вестник ТвГУ. Серия: Химия.* 2019. Вып. 35. № 1. С. 134–146. DOI:10.17223/24135542/7/1.
74. Дмитриева Е.Д., Каримова В.Т., Нечаева И.А. Влияние гуминовых веществ торфов Тульской области на рост микроорганизмов-деструкторов нефти *Rhodococcus erythropolis* S67 и *Rhodococcus erythropolis* X5. *Известия ТулГУ. Естественные науки.* 2017. № 2. С. 60–68.
75. Дмитриева Е.Д., Леонтьева М.М., Каримова В.Т. Влияние гуминовых веществ торфов на ростовые параметры микроорганизмов нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* в присутствии гексадекана. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия.* 2018. Т. 4. Вып. 70. № 2. С. 43–56.
76. Roberts T.L. Improving nutrient use efficiency. *Turk. J. Agric.* 2008. V. 32. P. 177–182.
77. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Utilization of hexadecane by biocomposition based on humic acids of peats and oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* in aqueous media. *Moroccan Journal of Chemistry.* 2020. V. 8. N 2. P. 392–399.
63. Perry C.T., Berkeley A., Smithers S.G. Microfacies characteristics of a tropical, mangrove-fringed shoreline, Cleveland Bay, Queensland, Australia: sedimentary and taphonomic controls on mangrove facies development. *J Sediment Res.* 2008. V. 78. P. 77–97. DOI:10.2110/jsr.2008.015.
64. De Carvalho A.A.T., Mantovani H.C., Paiva A.D., De Melo M.R. The effect of carbon and nitrogen sources on bovicin HC5 production by *Streptococcus* HC5. *J. App. Mic.* 2009. V. 107. N 1. P. 339–347. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04212.x.
65. Shvetsov V.N., Morozova K.M., Semenov M.Yu., Pushnikov M.Yu., Stepanov A.S., Nikiforov S.E. Oil-containing wastewater treatment by biomembrane methods. *Vodosnabzhenie i sanitarnaya tekhnika.* 2008. N 3. P. 39–42. (In Russian).
66. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Utilization of hexadecane by biocomposition based on humic acids of peats and oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* in aqueous media. *Moroccan Journal of Chemistry.* 2020. V. 8. N 2. P. 392–399.
67. Dang N.P., Landfald B., Willassen N.P. Biological surface-active compounds from marine bacteria. *Environ. Technol.* 2015. V. 37. N 9. P. 1151–1158. DOI: 10.1080/09593330.2015.1103784.
68. Belyakov A.Yu., Pleshakova E.V. Screening of microorganisms- destructors components of drilling fluids. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya.* 2013. V. 13. N 4. P. 37–42. (In Russian).
69. Berdichevskaya M.V. Features of the physiology of *Rhodococcus* in the developed oil deposits. *Mikrobiologiya.* 1989. V. 58. N 1. P. 60–65. (In Russian).
70. Nechaeva I.A., Lyong T.M., Satina V.E. Influence of the physiological characteristics of the bacteria genus *Rhodococcus* on the degradation n-hexadecane. *Izvestiya TulGU. Estestvennye nauki.* 2016. V. 1. P. 90–98. (In Russian).
71. Zampolli J., Collina E., Lasagni M., Gennaro P. Biodegradation of variable-chain-length n-alkanes in *Rhodococcus opacus* R7 and the involvement of an alkane hydroxylase system in the metabolism. *Applied and Environmental Microbiology.* 2014. V. 4. N 73. P. 1–9. DOI:10.1186/s13568-014-0073-4.
72. Karimova V.T., Dmitrieva E.D. Binding capacity of humic substances from different origin peats of the Tula region in the presence microorganisms degraders of oil *Rhodococcus* related to hexadecane. *Vestnik TvGU. Seriya: Khimiya.* 2018. V. 2. P. 145–157. (In Russian).
73. Dmitrieva E.D., Leonteva M.M., Osina K.V. Physico-chemical properties of humic substances of peats of the tula region. *Vestnik TvGU. Seriya: Khimiya.* 2019. V. 35. N 1. P. 134–146. DOI:10.17223/24135542/7/1. (In Russian).
74. Dmitrieva E.D., Karimova V.T., Nechaeva I.A. The effect of humic substances from different origin peats of the Tula region on the growth of microbial degraders of oil *Rhodococcus erythropolis* S67 and *Rhodococcus erythropolis* X5. *Izvestiya TulGU. Estestvennye nauki.* 2017. N 2. P. 60–68. (In Russian).
75. Dmitrieva E.D., Leonteva M.M., Karimova V.T. Investigation of the influence of humic substances of peats on the growth parameters of microorganisms degraders of oil *Rhodococcus* genus in the presence of hexadecane. *Uchenye zapiski Krymskogo federalnogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya.* 2018. V. 4(70). N 2. P. 43–56. (In Russian).
76. Roberts T.L. Improving nutrient use efficiency. *Turk. J. Agric.* 2008. V. 32. P. 177–182.

78. Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Влияние гуминовых кислот на состояние капель нефтепродуктов в присутствии микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus*. Вестник ТвГУ. Серия: Химия. 2021. Вып. 44. № 2. С. 69–79. DOI:10.26456/vtchem.2021.2.7.
79. Dmitrieva E.D., Efimova E.N., Siundiukova K.V., Perelomov L.V. Surface properties of humic acids from peat and saprope of increasing transformation. Environmental chemistry letters. 2015. V. 13. N 2. P. 197–202. DOI:10.1007/s10311-015-0497-3.
80. Salgado-Brito R., Neria M.I., Mesta-Howard A.M., Cedillo F.D., Wang E.T. Oxidation of solid paraffin (C11-40) by *Pseudomonas aeruginosa* MGP-1. Annals of Microbiology. 2007. N 57. P. 321–328. DOI:10.1007/BF03175067.
81. Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Способность гуминовых кислот торфов стабилизировать эмульсии нефти и нефтепродукты. Вестник ТвГУ. Серия: Химия. 2020. Вып. 41. № 3. С. 103–111. DOI:10.26456/vtchem2020.3.11.
82. Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Стабилизирующая способность гуминовых веществ и микроорганизмов рода *Rhodococcus* по отношению к нефтепродуктам. Вестник ТвГУ. Серия: Химия. 2020. Вып. 41. № 3. С. 112–123. DOI:10.26456/vtchem2020.3.1.
83. Гречищева Н.Ю., Перминова И.В., Холодов В.А., Мещеряков С.В. Стабилизация эмульсий нефти в воде высокодисперсными частицами: роль в процессах самоочищения и перспективы практического применения. Российский химический журнал. 2015. Т. 59. № 4. С. 34–50.
84. Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Детоксицирующая способность гуминовых веществ торфов и микроорганизмов рода *Rhodococcus* по отношению к нефтепродуктам в водных средах. Теоретическая и прикладная экология. 2021. № 2. С. 142–148. DOI:10.25750/1995-4301-2021-2-142-148.
85. Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Изучение связывающей и детоксицирующей способности биокомпозиции на основе гуминовых кислот торфов и микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* по отношению к нефтепродуктам в различных экосистемах (вода и почва). Актуальная биотехнология. 2020. Вып. 34. № 3. С. 425–428.
86. 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/jcprm.2019045521.
87. 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/jcprm.2020025552.
88. Шагидуллин Р.Р., Латыпова В.З., Иванов Д.В., Петров А.М., Шагидулина Р.А., Тарасов О.Ю. Нормирование допустимого остаточного содержания нефти и продуктов ее трансформации в почвах. Георесурсы. 2011. № 5 (41). С. 2–5.
77. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Utilization of hexadecane by biocomposition based on humic acids of peats and oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* in aqueous media. Moroccan Journal of Chemistry. 2020. V. 8. N 2. P. 392–399.
78. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Influence of peats humic substances on the state of drops of crude oil and oil products in the presence of oil degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus*. Vestnik TvGU. Seriya: Khimiya. 2021. V. 44. N 2. P. 69–79. DOI:10.26456/vtchem2021.2.7. (In Russian).
79. Dmitrieva E.D., Efimova E.N., Siundiukova K.V., Perelomov L.V. Surface properties of humic acids from peat and saprope of increasing transformation. Environmental chemistry letters. 2015. V. 13. N 2. P. 197–202. DOI:10.1007/s10311-015-0497-3.
80. Salgado-Brito R., Neria M.I., Mesta-Howard A.M., Cedillo F.D., Wang E.T. Oxidation of solid paraffin (C11-40) by *Pseudomonas aeruginosa* MGP-1. Annals of Microbiology. 2007. N 57. P. 321–328. DOI:10.1007/BF03175067.
81. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Ability of humic acids of peats to stabilize oil and petroleum product emulsions. Vestnik TvGU. Seriya: Khimiya. 2020. V. 41. N 3. P. 103–111. DOI:10.26456/vtchem2020.3.11. (In Russian).
82. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Stabilizing ability of humic substances and micro-organisms of the genus *Rhodococcus* in the relation to oil products. Vestnik TvGU. Seriya: Khimiya. 2020. V. 41. N 3. P. 112–123. DOI:10.26456/vtchem2020.3.1. (In Russian).
83. Grechishcheva N.Yu., Perminova I.V., Kholodov V.A., Meshcheryakov S.V. Stabilization of oil-in-water emulsions with highly dispersed particles: role in self-cleaning processes and prospects for practical application. Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal. 2015. V. 59. N 4. P. 34–50. (In Russian).
84. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Binding capacity of humic substances of peats in the relation to petroleum products in the presence of microorganisms of the genus *Rhodococcus* in aqueous media. Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2021. N 2. P. 142–148. DOI:10.25750/1995-4301-2021-2-142-148. (In Russian).
85. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. Study of the binding and detoxifying ability of a biocomposition based on humic acids of peat and microorganisms-oil destructors of the genus *Rhodococcus* in relation to oil products in various ecosystems (water and soil). Aktualnaya biotekhnologiya. 2020. V. 34. N 3. P. 425–428. (In Russian).
86. Dmitrieva E.D., Gertsen M.M., Gorelova S.V. The influence of humic acids on the sowing qualities of cockweed in oil pollution. Khimiya rastitelnogo syrya. 2019. N 4. P. 349–357. DOI:10.14258/jcprm.2019045521. (In Russian).
87. Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. The influence of humic acids in the presence of oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* on the sowing qualities of cockweed in oil pollution. Khimiya rastitelnogo syrya. 2020. N 2. P. 291–298. DOI:10.14258/jcprm.2020025552. (In Russian).
88. Shagidullin R.R., Latypova V. Z., Ivanov D. V., Petrov A.M., Shagidullina R.A., Tarasov O.Yu. Rationing of the permissible residual content of oil and its transformation products in soils. Georesources. 2011. N 5 (41). P. 2–5. (In Russian).

Поступила в редакцию (Received) 26.11.2021

Принята к опубликованию (Accepted) 27.12.2021