



DOI: 10.22363/2313-2310-2023-31-4-476-493

EDN: RGDLTG

УДК 504.062.2

Научная статья / Research article

Стабилизация нефтяных и масляных эмульсий биоорганическими композициями на основе гуминовых кислот

М.М. Герцен¹, А.Н. Гольшева², Л.В. Переломов¹¹Тульский государственный педагогический университет, Тула, Российская Федерация²Тульский государственный университет, Тула, Российская Федерацияmani.gertsen@gmail.com

Аннотация. Изучена стабилизирующая способность гуминовых кислот, выделенных из тростникового торфа Рязанской области, по отношению к нефти и нефтепродуктам при различных абиотических условиях водной среды. Обусловлена применимость используемых биоорганических композиций в условиях пониженной температуры и повышенной солености среды. Стабилизирующую способность разработанных биоорганических композиций определяли по коэффициенту пропускания водно-нефтяных эмульсий. Установлено, что в условии повышенной солености коэффициент пропускания снижается на 5–24 % относительно контрольного эксперимента для сырой нефти, дизельного топлива и отработанного масла при использовании монокультурных биоорганических композиций. Установлено, что использование поликультур в составе биоорганических композиций сильнее снижает коэффициент пропускания на 24–43 % для композиции «гуминовые кислоты + *Rhodococcus erythropolis* S67 + *Rhodococcus erythropolis* X5» и 10–29 % для композиции «гуминовые кислоты + *Rhodococcus erythropolis* S67 + *Rhodococcus erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF». Применимость исследуемых биоорганических композиций в условиях пониженных температур подтверждается снижением коэффициента пропускания до 68–73 % для дизельного топлива, до 60–64 % – для отработанного синтетического моторного масла и до 64–69 % – для сырой нефти. Установлено, что коэффициент пропускания уменьшается в ряду: «гуминовые кислоты + *Rhodococcus erythropolis* X5» → «гуминовые кислоты + *Pseudomonas fluorescens* 142NF» → «гуминовые кислоты + *Rhodococcus erythropolis* S67». Выявлено, что снижение коэффициента пропускания нефтяных эмульсии происходит за счет совместного применения гуминовых кислот и ассоциации бактерий-нефтедеструкторов (как при использовании двух, так и при использовании

© Герцен М.М., Гольшева А.Н., Переломов Л.В., 2023

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

трех штаммов). Стабилизирующая способность гуминовых кислот в условиях повышенной солености была сравнима с показателями в условиях пониженной температуры. Установлено, что торфяные гуминовые кислоты могут быть использованы в качестве основы для биоорганических композиций, стабилизирующих нефтяные и масляные эмульсии.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, нефть и нефтепродукты, отработанное синтетическое моторное масло, стабилизирующая способность, коэффициент пропуска, микроорганизмы-нефтедеструкторы, стабилизация эмульсий

Благодарности и финансирование. Статья подготовлена в рамках государственного задания по теме «Иммобилизация тяжелых металлов продуктами взаимодействий слоистых силикатов с почвенным органическим веществом и микроорганизмами» (Средства дополнительного соглашения № 073-03-2023-030/2 от 14.02.2023 к Соглашению о предоставлении субсидии из федерального бюджета на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) 073-00030-23-02 от 13.02.23).

Вклад авторов: *М.М. Герцен* – постановка и выполнение экспериментов, методология, исследование, обсуждение, подготовка текста публикации; *А.Н. Гольшева* – выполнение экспериментов, обсуждение, оформление текста публикации в печать; *Л.В. Переломов* – концепция работы, подготовка текста публикации (рецензирование и редактирование).

История статьи: поступила в редакцию 12.08.2023; доработана после рецензирования 15.09.2023; принята к публикации 20.09.2023.

Для цитирования: *Герцен М.М., Гольшева А.Н., Переломов Л.В.* Стабилизация нефтяных и масляных эмульсий биоорганическими композициями на основе гуминовых кислот // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2023. Т. 31. № 4. С. 476–493. <http://doi.org/10.22363/2313-2310-2023-31-4-476-493>

Stabilization of petroleum and oil emulsions by bioorganic compositions based on humic acids

Maria M. Gertsen¹, Anastasia N. Golysheva², Leonid V. Perelomov¹

¹*Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University, Tula, Russian Federation*

²*Tula State University, Tula, Russian Federation*

 mani.gertsen@gmail.com

Abstract. The stabilizing ability of humic acids isolated from reed fen peat of the Ryazan region in the relation to oil and petroleum products under various abiotic conditions of the aquatic environment has been studied. The applicability of the used biological products in conditions of low temperature and increased salinity of the medium is determined. The stabilizing ability of the developed biological products was determined by the transmittance of emulsions. It was found that in the condition of increased salinity, the transmission coefficient decreases by 5–24% relative to the control experiment for crude oil, diesel fuel and waste oil when using monocultural biological products. It was found that the use of polycultures in the composition of biological products significantly reduces the transmittance by 24–43% for “HAs

from reed peat of the Ryazan region + *Rhodococcus erythropolis* S67 + *Rhodococcus erythropolis* X5” and 10-29% for “Humic acids of reed peat of the Ryazan region + *Rhodococcus erythropolis* S67 + *Rhodococcus erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF”. The applicability of the studied biological products in conditions of low temperatures is confirmed by a decrease in the transmission coefficient to 68-73% for diesel fuel, to 60–64% for used synthetic engine oil and to 64–69% for crude oil. It was found that the transmission coefficient decreases in the series: “Humic acids of reed fen peat of the Ryazan region + *Rhodococcus erythropolis* X5” → “Humic acids of reed peat of the Ryazan region + *Pseudomonas fluorescens* 142NF” → “Humic acids from reed fen peat of the Ryazan region + *Rhodococcus erythropolis* S67”. It was revealed that the reduction of the transmission coefficient of oil emulsions occurs due to the combined use of humic acids isolated from reed peat of the Ryazan region and the association of bacteria (both when using 2 and 3 strains). The stabilizing ability of humic acids in conditions of increased salinity was comparable to it in conditions of reduced temperature. It has been established that cane humic acids of the Ryazan region can be used as a basis for biological products that stabilize oil and oil emulsions.

Keywords: humic acids, oil and oil products, used synthetic motor oil, stabilizing ability, transmittance, oil degrading microorganisms, emulsion stabilization

Acknowledgements and Funding. The research was carried out within the framework of the State task on the topic: “Immobilization of trace elements by the products of interactions of layered silicates with soil organic matter and microorganisms” (Additional Agreement No. № 073-03-2023-030/2 from 14.02.2023 to Agreement No. 073-00030-23-02 from 13.02.23).

Authors’ contributions: *M.M. Gertsen* – setting up and performing experiments, methodology, investigation and writing – original draft preparation; *A.N. Golysheva* – performing experiments writing, review and editing; *L.V. Perelomov* – concept of work, critical review.

Article history: received 12.08.2023; revised 15.09.2023; accepted 20.09.2023

For citation: Gertsen MM, Golysheva AN, Perelomov LV. Stabilization of petroleum and oil emulsions by bioorganic compositions based on humic acids. *RUDN Journal of Ecology and Life Safety*. 2023;31(4):476–493. (In Russ.) <http://doi.org/10.22363/2313-2310-2023-31-4-476-493>

Введение

Возрастающие объемы антропогенного вмешательства в биосистему создают актуальную проблему современности: поиск новых и усовершенствование существующих способов очистки экосистем от токсикантов различного класса. Одними из самых опасных загрязнителей являются нефть и нефтепродукты. Распространенные способы устранения последствий нефтяного загрязнения несут в себе много недостатков. Перспективным является поиск способов ремедиации нефтезагрязненных экосистем, отвечающих требованиям «зеленой химии» и в то же время остающихся экономически выгодным. Кроме того, такой метод должен работать в экстремальных климатических условиях [1; 2].

Стабилизация водонефтяных систем (рис. 1) – это процесс, обладающий динамикой, определяющийся законами соперничающей адсорбции на эмульсионных каплях многообразных вещественных соединений такого типа. Изначально протекание этого процесса имеет довольно высокую скорость, а затем замедляется в соответствии с наполняемостью свободной капельной поверхностью, на которой способна происходить реакция адсорбции веществ с последующим ее замедлением. Существенная доля стабилизаторов нефти натурального происхождения причисляется к поверхностным активным веществам. Структурная особенность эмульгаторов заключается в их дифильности. Другими словами, данные вещества включают в себя группы ионогенов (полярной) и радикала углеводорода. Первая группа определяет родственную связь эмульгатора с водой. Углеводороды схожи с углеводородными веществами в жидком состоянии. Соотносимость величины обеих групп определяет устойчивость эмульсий [3].

Упрощенно данный механизм (рис. 1) можно описать следующим образом: способность ГК к адсорбции на различных поверхностях приводит к разрушению структурного каркаса в объеме нефти, препятствуя его восстановлению. Деактивированные частицы парафинов с адсорбированными асфальтосмолистыми веществами теряют способность к осаждению и удерживаются в нефти в виде суспензии. Исходя из механизма структурообразования в нефтяных системах, можно предположить, что перевод частиц дисперсной фазы из связнодисперсного в свободнодисперсное состояние будет способствовать уменьшению вязкости системы [4].

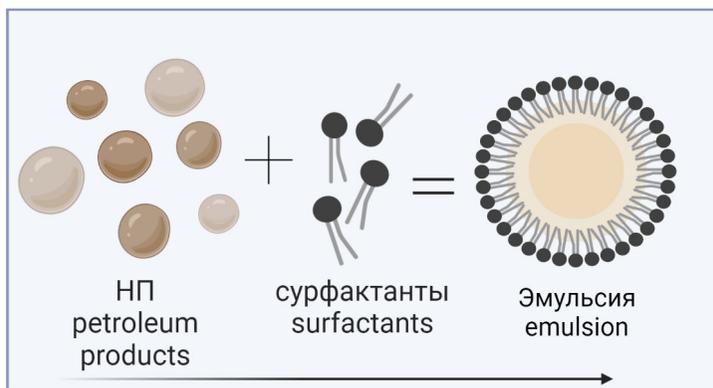


Рис. 1. Механизм образования эмульсии нефти и нефтепродуктов с ПАВ.

Источник: авторский рисунок /

Figure 1. Mechanism of oil and petroleum products emulsion formation with surfactants

Source: author's drawing

Переход от модельных объектов выделения биодиспергентов нефти и нефтепродуктов – торфов, углей, сапропелей к коммерческим готовым гумусовым препаратам и оценка критериев их применимости как ПАВ обеспечит универсальность разработанных биоорганических композиций в промышленных масштабах.

Целью работы является изучение стабилизирующей способности гуминовых кислот, выделенных из тростникового торфа Рязанской области, по отношению к сырой нефти, углеводородам нефти при различных абиотических условиях водной среды.

Экспериментальная часть

Для изучения физико-химических характеристик гуминовых кислот (ГК) и их связывающих по отношению к нефти и нефтепродуктам были выбраны гуминовые кислоты тростникового торфа Рязанской области, выделенные проводили по наиболее распространенной методике, основанной на растворении торфа в растворе NaOH с образованием растворимых гуматов и подкислении раствора для осаждения свободных гуминовых кислот [4–6]. Примерная схема реакции выделения гуминовых кислот под действием NaOH представлена на рис. 2.

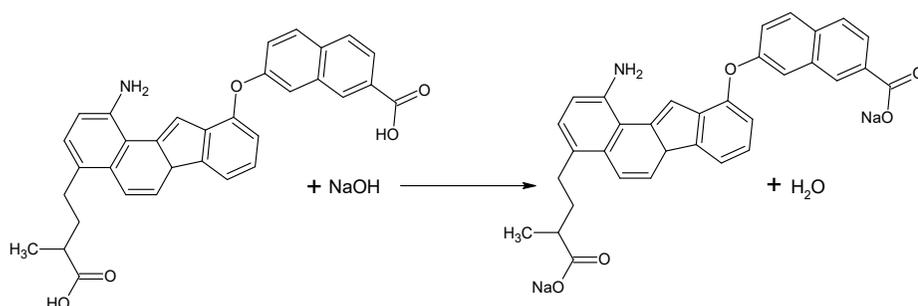


Рис. 2. Схема выделения гуминовых кислот под действием NaOH /
Figure 2. Scheme of humic acid release under the action of NaOH

Определяли критическую концентрацию мицеллообразования ГК методом сталагмометрии и методом дю Нуи [7–9]. Для проведения экспериментов готовили серии растворов, которые должны были соответствовать критерию критической концентрации в этом растворе. Проводили по 5 параллельных замеров с интервалом 15 мин в зависимости от концентрации. Для определения поверхностного натяжения методом дю Нуи использовали танзиометр, ККМ определяли из графика с зависимостью $\gamma = f(\lg C)$. Для проведения экспериментов готовили серии растворов, которые должны были соответствовать критерию критической концентрации в этом растворе. Проводили по 5 параллельных замеров с интервалом 15 мин в зависимости от концентрации. При определении сталагмометрическим методом. Суть заключалась в измерении веса капли раствора гуминовых кислот, отрывающейся от конца капилляра в нижней части сталагмометрической трубки. Стабильность нефтяных и масляных эмульсий определяли методом турбидиметрии [8–10]. Метод основан на измерении ослабления интенсивности основного светового потока после его прохождения через дисперсную

среду. Использование в работе длины волны 525 нм обусловлено литературными данными [11], согласно которым коллоидные частицы хорошо рассеивают коротковолновый (синий) свет, при этом они не оказывают воздействие на красный – длинноволновый. Оптимальная длинная волны была определена экспериментально.

Методика эксперимента: в колбы вносили раствор гуминовых кислот концентрацией 50 мг/л и 2 % токсиканта по объему. Для изучения влияния гуминовых кислот на агрегатное состояние загрязнителей растворы помещали в ультразвуковую баню на 2 мин. После этого отбирали пробы через 2, 4, 6, 8, 10, 12, 20, 24, 26 часов на глубине 4 см для измерения оптической плотности при 525 нм на спектрофотометре СФ-104 [12–14], коэффициент пропускания служил критерием стабильности эмульсии в воде (T , %) [3; 4; 15; 16]

$$T = 10^{-D} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

где D – оптическая плотность.

В качестве модельных загрязнителей выбраны следующие объекты: дизельное топливо с заправки Роснефть, отработанное синтетическое моторное масло total quartz 9000 5w40 и сырая нефть с нефтеперерабатывающего завода АО «ГАЗПРОМНЕФТЬ-МНПЗ». Физико-химические характеристики модельных токсикантов определяли по методикам ГОСТ¹ [17; 18].

Эксперименты проводили в водных средах при различных абиотических условиях (комнатная температура (22 °С), пониженная температура (0 °С), повышенная соленость (10 % NaCl)).

Стадии экспериментального процесса стабилизации нефтяных / масляных эмульсий представлены на рис. 3.

Результаты и обсуждение

Установили критическую концентрацию мицеллообразования $GK_{\text{рыз}}$ методом Дю Нуи и методом сталогмометрии: результаты 0,6 г/л при использовании обоих методов. Полученные данные по значению ККМ $GK_{\text{рыз}}$ согласуются с данными других работ: 0,6–0,8 г/л [19], 0,8 г/л [18], низкое значение ККМ обуславливает высокую способность ПАВ гуминовых кислот снижать поверхностное натяжение. Этот фактор приводит к увеличению стабильности образовавшейся эмульсии. Кроме того, при дальнейшем увеличении концентрации нефтепродуктов способность к адсорбции гуминовых кислот достигает насыщения, и поверхностное натяжение не может уменьшаться дальше. Однако при слишком большой концентрации нефтепродуктов, по сравнению с гуминовыми кислотами, увеличение стабильности эмульсии не достигается,

¹ ГОСТ 20287-91 «Нефтепродукты. Методы определения температур текучести и застывания» (утв. постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 13 мая 1991 г. № 671); ГОСТ 33-2016 «Нефть и нефтепродукты. Прозрачные и непрозрачные жидкости. Определение кинематической и динамической вязкости» (дата регистрации: 27.09.2016).

а, наоборот, эмульсия становится более «хрупкой», что связано с ослаблением эффекта Марангони. Высокая амфифильность ГК_{ряз}, обусловленная их строением, способствует формированию супрамолекулярных структур – мицелл за счет Ван-дер-Ваальсового взаимодействия [19].

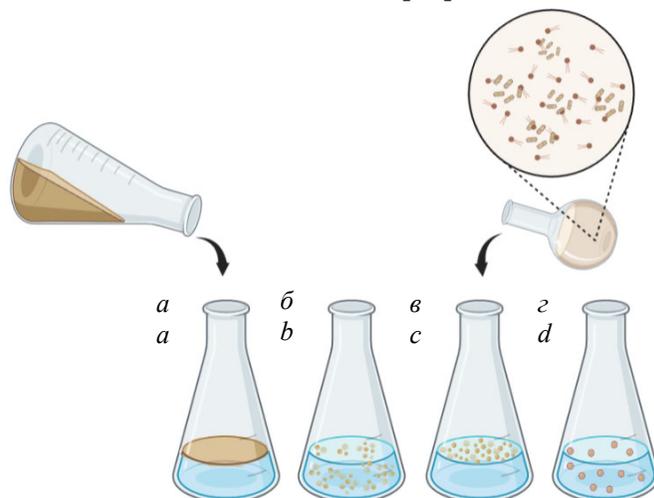
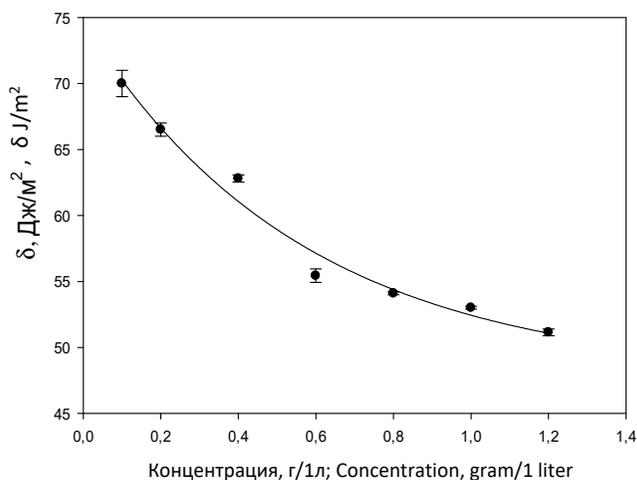


Рис. 3. Стадии образования стабильных нефтяных эмульсий:

а – две несмешивающиеся жидкости; *б* – диспергирование, образование нестабильной эмульсии;
в – добавление поверхностно-активных веществ, коагуляция нефтяных частиц;
г – стабилизация нефтяных эмульсий /

Figure 3. Stages of formation of stable oil emulsions: *a* – two immiscible liquids;

b – dispersion, formation of unstable emulsion; *c* – addition of surfactants, coagulation of oil particles;
d – stabilization of oil emulsions



**Рис. 4. Зависимость поверхностного натяжения водных растворов гуминовых кислот /
 Figure 4. Dependence of the surface tension of aqueous solutions of humic acids**

В работе использовали биоорганические композиции (рис. 5) следующего состава: монобактериальные композиции: ГК (50 мг/л) : суспензия бактерий (10^5 – 10^6 КОЕ) = 3:1; полибактериальные композиции: ГК (50 мг/л) : суспензия бактерий (10^5 – 10^6 КОЕ) = 5:3.

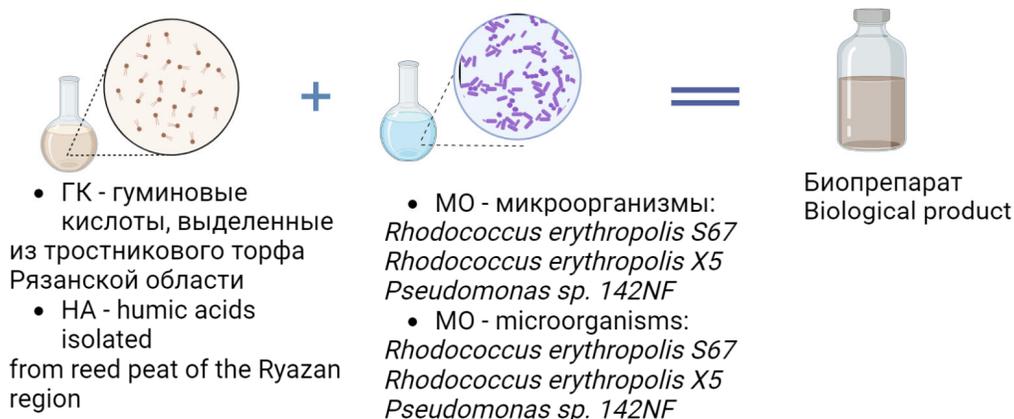
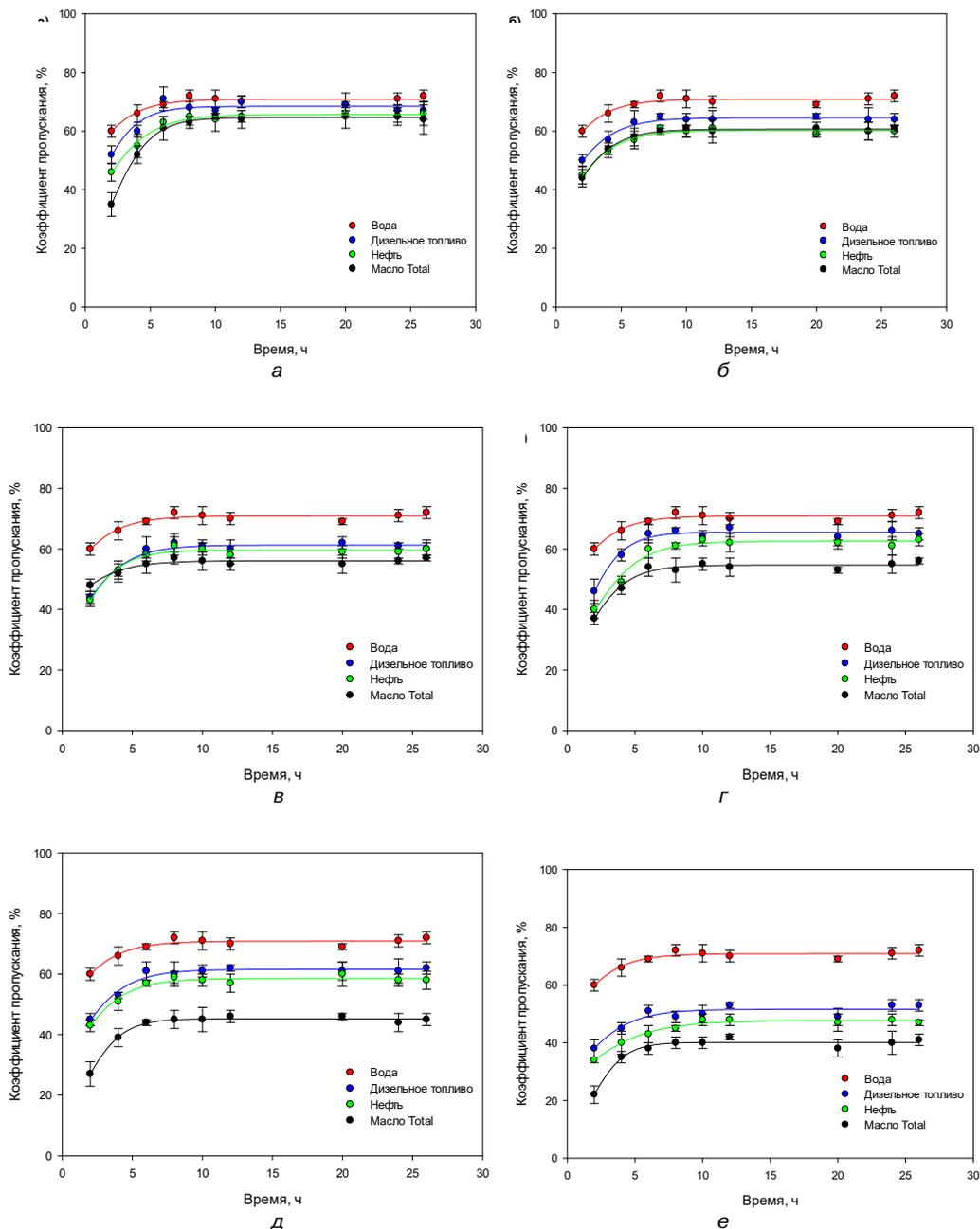


Рис. 5. Состав биоорганической композиции / Figure 5. Composition of bioorganic composition

Устанавливали стабилизирующую способность тростниковых гуминовых кислот Рязанской области и биоорганических композиций на их основе. Данные по стабилизации нефтяных и масляных эмульсий при комнатной температуре для анализируемых образцов представлены на рис. 6.

Установлено, что гуминовые кислоты, выделенные из тростникового торфа Рязанской области, стабилизируют эмульсии модельных токсикантов в воде (рис. 6). Значения коэффициента пропускания водной эмульсии сырой нефти в присутствии ГК_{Ряз} на 8 % меньше, чем в контрольном образце (рис. 6 а), для дизельного топлива – на 4 % меньше, а для отработанного синтетического моторного масла – на 8 %. Стойкость систем эмульсий в первую очередь связана с образованием на поверхности раздела фаз «нефть–вода» адсорбционного слоя. Вследствие этого образуется прочный механический барьер на мелких каплях воды, распределенных в нефтяно-масляной фазе, что препятствует отделению воды. Для модельных токсикантов было определено содержание примесей серы по методике²: 6,8 % наблюдается для дизельного топлива; для сырой нефти – 1,3 %, для отработанного моторного масла – 1,3 %. Известно, что чем ниже содержание серы в нефтепродуктах, тем более устойчивой является система [20]. Добавление ПАВ, в виде гуминовых кислот, оказывает существенное влияние на образование и стабилизацию масляных и нефтяных эмульсий. Характерной особенностью ГК является амфифильность, которую обеспечивают гидрофильные и гидрофобные группы, входящие в состав молекулы ГК. На стабилизирующую способность гидрофильность влияет следующим образом: чем она выше, тем сильнее способность ГК к стабилизации эмульсий нефти в воде.

² ГОСТ 32139-2019. Нефть и нефтепродукты. Определение содержания серы методом энергодисперсионной рентгенофлуоресцентной спектроскопии.



Conventional color designations: green – petroleum; red – water; blue – diesel fuel; black – oil

Рис. 6. Стабилизация эмульсии нефтепродуктов при комнатной температуре (22°С)

а – ГК_{ряз.}; б – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67»; в – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* X5»;
 г – «ГК_{ряз.} + *Pseudomonas fluorescens* 142NF»; д – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5»;
 е – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF».

Источник: составлено авторами /

Figure 6. Stabilization of the emulsion of petroleum products at room temperature (22°С)

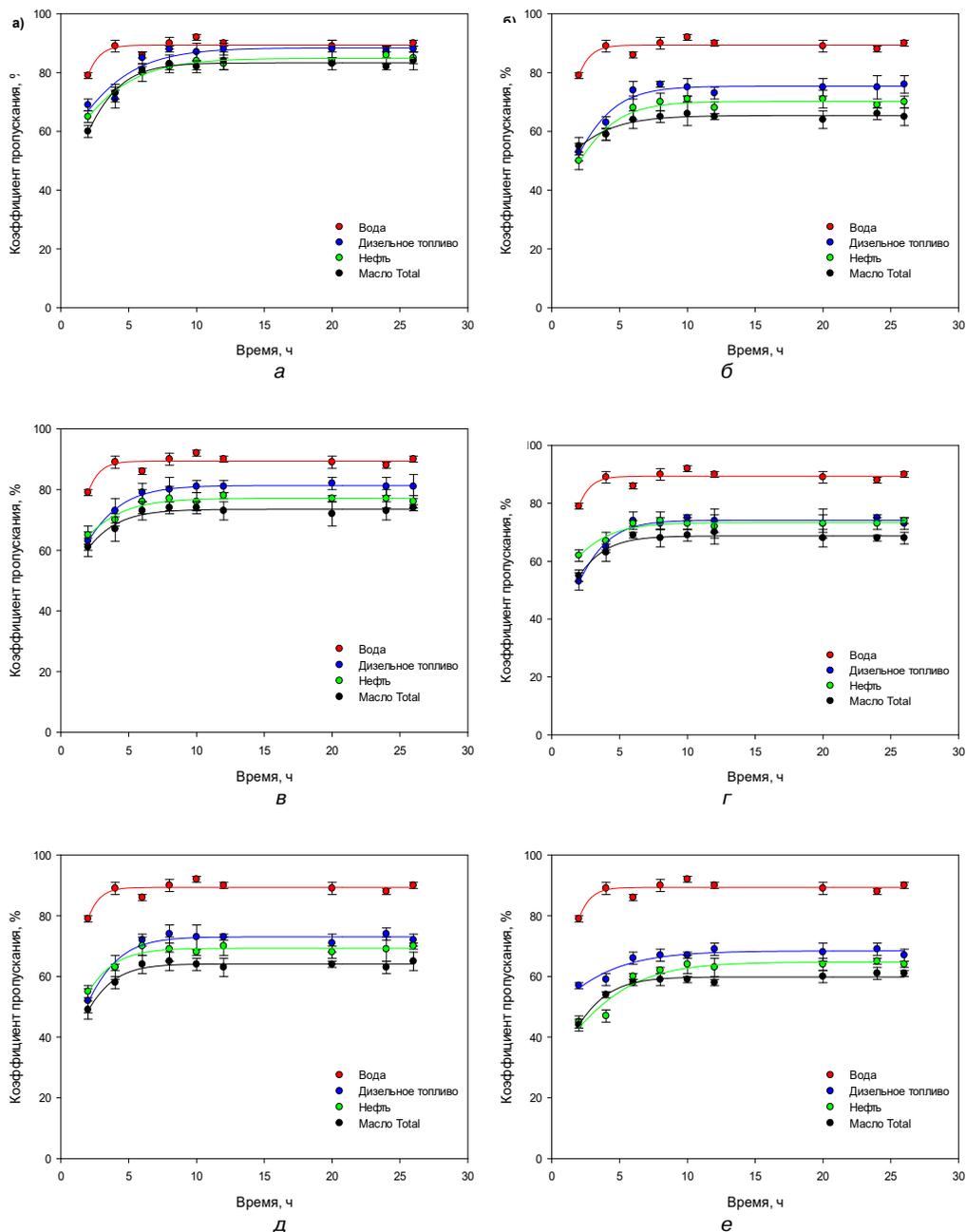
а – HAs.; б – "HAs + *R. erythropolis* S67"; в – "HAs + *R. erythropolis* X5"; г – "HAs + *Pseudomonas* 142NF";
 д – "HAs + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5";
 е – "HAs + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF"

Source: compiled by the authors.

В работе были использованы микроорганизмы-нефтедеструкторы рода *Rhodococcus* и *Pseudomonas*. Значения величины пропускания (Т) при использовании биоорганической композиции были существенно ниже, чем в системах, состоящих только из гуминовых кислот (рис. 6 б, в, г). Величина коэффициента пропускания эмульсии для дизельного топлива изменяется в диапазоне от 44 до 50 % через 2 часа после начала эксперимента в зависимости от выбранного микроорганизма и от 60 до 65 % к моменту завершения эксперимента (рис. 6 б, в, г). Сравнивая с контрольным экспериментом, видно, что коэффициент пропускания уменьшается на 10 % (рис. 6 а). Для отработанного моторного масла и нефти коэффициент пропускания снижается на 20 % относительно контроля. Значения коэффициентов пропускания через 24 часа в водных эмульсиях нефтепродуктов выравниваются. Такой эффект происходит из-за того, что ГК выступают в качестве адаптогенов бактерий к их росту на гидрофобных субстратах путем перераспределения между средой и клеточной поверхностью биосурфактантов, продуцируемых *Pseudomonas* и *Rhodococcus*. Этот процесс способствует более быстрому поглощению углеводородов нефти и стабилизации масляных/нефтяных эмульсий в воде, приводящему к осаждению мелкодисперсных частиц. Кроме того, при совместном использовании *Pseudomonas* и ГК_{ряз} стабилизирующее действие выше для отработанного моторного масла. При сравнении ГК и *Rhodococcus* отмечено, что коэффициент пропускания меньше на 5–10 %, что, может быть, связано с составом используемого отработанного моторного масла. В его состав входят тяжелые нефтяные фракции, которые способны деградироваться штаммом *Pseudomonas* благодаря выделенным им плазмидам [21].

Максимальный стабилизирующий эффект достигается при использовании биоорганических композиций на основе ГК_{ряз} и ассоциации бактерий: для композиции «ГК_{ряз}+R.X5+R.S67» коэффициенты пропускания эмульсий на 15–56 % ниже относительно контроля и на 5–35 % ниже относительно ГК_{ряз} и для каждого штаммов бактерий, используемого не в ассоциации. Для следующей композиции: «ГК_{ряз}+R.X5+R.S67+Ps.142NF» коэффициенты пропускания эмульсий на 37–75 % ниже относительно контроля и на 24–50 % ниже относительно ГК_{ряз} и для каждого штаммов бактерий, используемого не в ассоциации.

Максимального стабилизирующего эффекта можно достигнуть при применении биоорганических композиций на основе ГК_{ряз} и ассоциации бактерий: для «ГК_{ряз}+R.X5+R.S67» коэффициенты пропускания эмульсий уменьшились на 15–56 % относительно контрольного эксперимента и на 5–35 % – относительно ГК_{ряз} и одного штаммов бактерий из каждого вида. При использовании биокомпозиции «ГК_{ряз}+R.X5+R.S67+Ps.142NF» коэффициенты пропускания эмульсий ниже на 37–75 % относительно контрольного эксперимента и на 24–50 % для композиции ГК_{ряз} и одного штамма бактерий каждого вида.



Conventional color designations: green – petroleum; red – water; blue – diesel fuel; black – oil

Рис. 7. Стабилизация эмульсии нефтепродуктов при пониженной температуре (0°C)
 а – ГК_{ряз.}; б – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67»; в – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* X5»;
 г – «ГК_{ряз.} + *Pseudomonas fluorescens* 142NF»; д – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5»;
 е – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF».

Источник: составлено авторами /

Figure 7. Stabilization of the emulsion of petroleum products at a reduced temperature (0°C)
 а – HAs.; б – "HAs + *R. erythropolis* S67"; в – "HAs + *R. erythropolis* X5";
 г – "HAs + *Pseudomonas* 142NF"; д – "HAs + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5";
 е – "HAs + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF"
 Source: compiled by the authors.

Изучали стабилизирующую способность $GK_{\text{ряз}}$ совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами в условиях пониженной температуры ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$) (рис. 7).

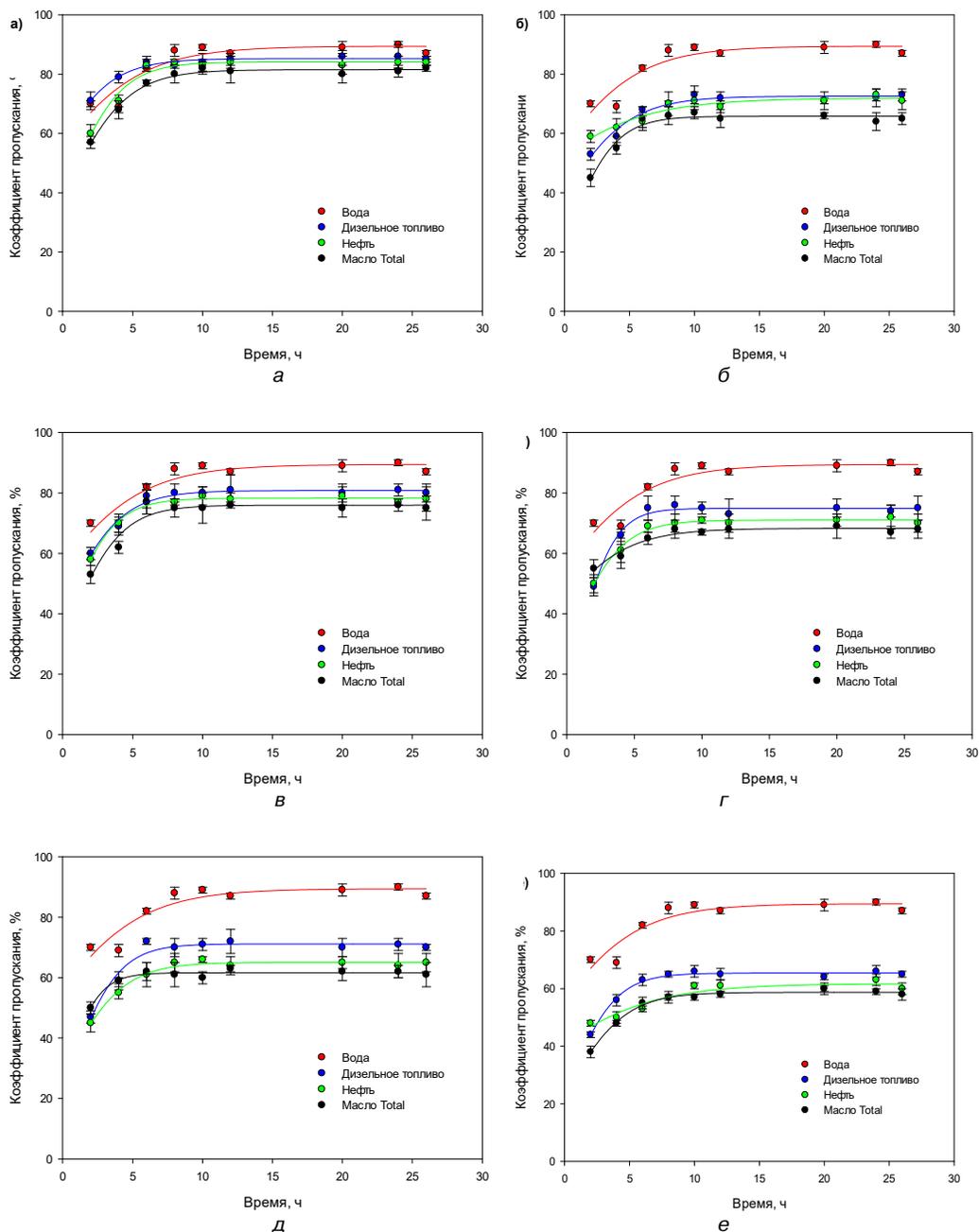
Низкие температуры снижают скорость распространения и перемещения разлитой нефти вследствие увеличения ее вязкости. Изменения, происходящие в нефти из-за снижения температуры, влияют на биодоступность и степень деградации микроорганизмов, а также на солюбилизацию экотоксикантов.

Из представленных данных видно, что ГК при температуре $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ стабилизируют эмульсию модельных экотоксикантов в воде (рис. 7 а). Результаты определения коэффициента пропускания водной эмульсии дизельного топлива в присутствии ГК при пониженной температуре стали меньше на 3 %, чем в контроле, в сырой нефти – на 6 % и в отработанном моторном масле – на 8 %. Важно отметить, что стабилизация эмульсий аналогична данным эксперимента при комнатной температуре при использовании биоорганической композиции на основе ГК и ассоциации бактерий-нефтедеструкторов. Установлено, что коэффициент пропускания уменьшается в ряду: « $GK_{\text{ряз}} + Rhodococcus X5$ » → «ГК + *Pseudomonas fluorescens* 142NF» → « $GK_{\text{ряз}} + Rhodococcus S67$ ». Минимальный коэффициент пропускания масляных эмульсий был достигнут при использовании биоорганической композиции «ГК + *Rhodococcus S67*» 65 % (рис. 7 б, в, г).

Снижение коэффициента пропускания эмульсии происходит за счет применения биоорганической композиции на основе $GK_{\text{ряз}}$ и ассоциации бактерий (как при использовании двух, так и при использовании трех штаммов). В условиях пониженной температуры их применение приводит к снижению коэффициента пропускания эмульсий до 68–73 % для дизельного топлива, 60–64 % – для отработанного моторного масла и 64–69 % – для сырой нефти (рис. 7). Применимость использования *Rhodococcus* в экстремальных условиях также показана в работе [22].

Далее было проведено исследование стабилизирующей способности гуминовых кислот в условиях повышенной солености среды (10 % NaCl). Вместе с микроорганизмами в качестве токсикантов использовали сырую нефть, отработанное моторное масло и дизельное топливо. Данные по стабилизации эмульсий токсикантов представлены на рис. 8.

Стабилизирующая способность гуминовых кислот в условиях повышенной солености была сравнима с ней же в условиях пониженной температуры (рис. 8), коэффициент пропускания нефтяных эмульсий варьировался от 82 до 85 % (в зависимости от типа используемого токсиканта). В зависимости от типа используемых бактерий относительно раствора $GK_{\text{ряз}}$ совместно с микроорганизмами-нефтедеструкторами значения коэффициента T водной эмульсии сырой нефти, дизельного топлива и отработанного моторного масла снижается на 5–24 %.



Conventional color designations: green – petroleum; red – water; blue – diesel fuel; black – oil

Рис. 8. Стабилизация эмульсии нефтепродуктов в условиях повышенной солёности среды (10% NaCl): а – ГК_{ряз.}; б – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67»; в – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* X5»; г – «ГК_{ряз.} + *Pseudomonas fluorescens* 142NF»; д – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5»; е – «ГК_{ряз.} + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF».

Источник: составлено авторами /

Figure 8. Stabilization of molybdenum of non-products in the composition of food salt (10% NaCl)

а – HAs.; б – "HAs + *R. erythropolis* S67"; в – "HAs + *R. erythropolis* X5";

г – "HAs + *Pseudomonas* 142NF"; д – "HAs + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5";

е – "HAs + *R. erythropolis* S67 + *R. erythropolis* X5 + *Pseudomonas fluorescens* 142NF"

Source: compiled by the authors.

При сравнении монокультурной биоорганической композиции с поликультурным отмечено снижение коэффициента пропускания на 24–43 % для «ГК_{ряз} + *R.S67* + *R.X5*» и 10–29 % для «ГК_{ряз} + *R.S67* + *R.X5* + *Ps.142NF*» в сравнении с контролем и на 2–22 % для «ГК_{ряз} + *R.S67* + *R.X5*» и 10–29 % для «ГК_{ряз} + *R.S67* + *R.X5* + *Ps.142NF*. Среди всех используемых микроорганизмов лучше влияли на стабилизацию эмульсий *Rhodococcus X5*, что согласуется с их более высоким индексом эмульгирования E_{24} (при температуре культивирования 26 °C E_{24} *R.X5* к гексадекану составил 55 %, что на 20 % выше, чем у *R. S67*) [26].

Заключение

Установлено, что биоорганические композиции на основе ГК_{ряз} и ассоциаций микроорганизмов можно использовать в качестве стабилизаторов нефтяных эмульсий в воде при различных абиотических условиях. Применение монокультурных биоорганических композиций снижает коэффициент пропускания в условиях повышенной солености на 5–24 % в зависимости от выбранного токсиканта (дизельное топливо, сырая нефть или отработанное моторное масло) по сравнению с контрольными экспериментами. Кроме того, выявлено, что коэффициент пропускания сильнее снижается при использовании биоорганических композиций с поликультурами (24–43 % для «ГК_{ряз} + *R.S67* + *R.X5*» и 10–29 % для «ГК_{ряз} + *R.S67* + *R.X5* + *Ps.142NF*»). При применении композиций в условиях пониженных температур коэффициент T опустился до 68–73 % для дизельного топлива, 60–64 % – для отработанного моторного масла и 64–69 % – для сырой нефти. Кроме того, в работе было установлено, что коэффициент пропускания уменьшается в ряду: «ГК_{ряз}+*Rhodococcus X5*» → «ГК_{ряз} + *Pseudomonas fluorescens 142NF*» → «ГК_{ряз}+*Rhodococcus S67*». Эффективность биоорганических композиций обусловлена образованием ГК структурно-механического барьера вокруг нефтяных капель. Другой фактор, обуславливающий возможность их использования, – это то, что ГК – питательный субстрат для микроорганизмов-нефтедеструкторов. В свою очередь, после нанесения микроорганизмов на очищаемую поверхность, они включаются в процесс биodeградации углеводородов нефти благодаря прикреплению к ее пленке на разделе фаз «нефть – природная среда». В результате жизнедеятельности микроорганизмов и деструкции нефти возникают биосурфактанты, способствующие сольubilизации нефтяных углеводородов. В результате образования миксов эмульсий нефти и последующей седиментации происходит дальнейшее разложение до нетоксичных продуктов.

Список литературы

- [1] *Иваненко Н.В.* Экологическая токсикология: учебное пособие. Владивосток: Изд-во ВГУЭС. 2006. 108 с.
- [2] *Неустроев М.М.* Экологическая оценка нефтезагрязненных мерзлотных почв и разработка способов их биоремедиации: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 /

- Неустроев Михаил Михайлович; Сев.-Вост. федер. ун-т им. М.К. Аммосова. Якутск, 2016. 16 с.
- [3] *Гречищева Н.Ю.* Разработка научных основ применения гуминовых веществ для ликвидации последствий нефтезагрязнений почвенных и водных сред: дис. ... канд. хим. наук. М., МГУ. 2016. 326 с.
- [4] *Герцен М.М., Дмитриева Е.Д.* Способность гуминовых кислот стабилизировать эмульсии нефти и нефтепродуктов // Вестник ТвГУ. Серия «Химия». 2020. № 3 (41). С. 103–111. <http://doi.org/10.26456/vtchem2020.3.11>
- [5] *Дмитриева Е.Д., Сюдюкова К.В., Леонтьева М.М., Глебов Н.Н.* Влияние рН среды на связывание ионов тяжелых металлов гуминовыми веществами и гиматомелановыми кислотами торфов // Ученые записки Казанского университета. Естественные науки. 2017. Т. 159, кн. 4. С. 575–588.
- [6] *Гостищева М.В., Федько И.В., Писниченко Е.О.* Сравнительная характеристика методов выделения гуминовых кислот из торфов с целью получения гуминовых препаратов // Доклады Томского государственного университета систем управления и радиоэлектроники. 2004. № 1 (9). С. 66–68.
- [7] *Изосимов А.А.* Физико-химические свойства, биологическая активность и детоксицирующая способность гуминовых препаратов, отличающихся генезисом органического сырья. М., 2016.
- [8] *Мальцева Е.В., Юдина Н.В.* Сорбция гуминовых кислот кварцевыми песками // Химия твердого топлива. 2014. №. 4. С. 27–27. <http://doi.org/10.7868/S0023117714040082>
- [9] *Бакеева Р.Ф., Каримуллин Р.А., Курабашева Р.Ф., Горбунова Т.С., Вахитова О.Е., Сопин В.Ф.* Мицеллообразование в бинарном растворителе диметилсульфоксид-вода в присутствии NaCl. Планирование и оптимизация эксперимента // Жидкие кристаллы и их практическое использование. 2017. Т. 17, №. 2. С. 51–61. <http://doi.org/10.18083/LCAppl.2017.2.51>
- [10] *Гречищева Н.Ю., Хань П., Будылин С.В., Пермнинова И.В., Мещеряков С.В.* Исследование связывающей способности модифицированных гуминовых препаратов по отношению к пирену в гомогенной и гетерогенной фазах // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2011. № 6. С. 24–29
- [11] *Фармаковская Т.А., Новожилова Т.И., Макарецов В.В., Карасев А.В., Константинова О.В.* Разработка методов определения стабильности фторуглеродных эмульсий и прогнозирования сроков их хранения // Химия и технология органических веществ. 2017. №. 1. С. 90–99. http://doi.org/10.54468/25876724_2017_1_90
- [12] *Бойкова О.И., Волкова Е.М.* Химические и биологические свойства торфов Тульской области // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2013. № 3. С. 253–264.
- [13] *Герцен М.М., Дмитриева Е.Д.* Способность гуминовых кислот торфов стабилизировать эмульсии нефти и нефтепродуктов // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2020. № 3. С. 103–111. <http://doi.org/10.26456/vtchem2020.3.11>
- [14] *Герцен М.М., Дмитриева Е.Д.* Стабилизирующая способность гуминовых веществ и микроорганизмов рода *Rhodococcus* по отношению к нефтепродуктам // Вестник ТвГУ. Серия «Химия». 2020. № 3 (41). С. 112–123. <http://doi.org/10.26456/vtchem2020.3.12>
- [15] *Гречищева Н.Ю., Щукина В.Д., Холодов В.А., Лазарева Е.В., Парфенова А.М., Мещеряков С.В., Пермнинова И.В.* Оценка способности гуминово-глинистых комплексов стабилизировать эмульсии нефти в воде // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2014. № 9. С. 51–55.

- [16] Нечаева И.А., Льюнг Т.М., Сатина В.Э., Филонов А.Е., Понаморёва О.Н. Влияние температуры на способность родококков – эффективных нефтедеструкторов поглощать гексадекан // *Актуальная биотехнология*. 2016. № 3 (18). С. 103–106.
- [17] Юдина Н.В., Савельева А.В., Ломовский О.И. Поверхностно-активные свойства и биологическая активность механоактивированных гуминовых кислот, выделенных из торфа // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2019. Т. 27, № 4. С. 437–442. <http://doi.org/10.15372/KhUR2019156>
- [18] Мозговая Н.Д. Исследование процессов ассоциатообразования и поверхностно-активных свойств гуминовых кислот в зависимости от концентрации и pH среды: дипломная работа (проект) специалиста по направлению подготовки: 04.05.01 – Фундаментальная и прикладная химия. 2018.
- [19] Джи С., Джикунанг, Д., Пейю Д., Йе Л., Ксианшунг Ч., Хайли Х. Приготовление и оценка свойств стабильных пен, полученных на основе тяжелой нефти // *Нефтехимия*. 2017. Т. 57, № 2. С. 226–234. <http://doi.org/10.7868/S0028242117020071>
- [20] Rahman K.S.M., Banat I.M., Thahira J., Thayumanavan T., Lakshmanaperumalsamy P. Bioremediation of gasoline contaminated soil by a bacterial consortium amended with poultry litter, coir pith and rhamnolipid biosurfactant 300 // *Bioresource Technology*. 2002. Vol. 81. P. 25–32. [http://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00105-5](http://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00105-5)
- [21] Панов А.В. Панов А.В. Изменение состава сообществ бактерий-деструкторов в условиях загрязнения устойчивыми органическими соединениями: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Панов Андрей Владимирович; Ин-т биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН. Пущино, 2013. 24 с.
- [22] Нечаева И.А., Льюнг Т.М., Сатина В.Э., Филонов А.Е., Понаморёва О.Н. Влияние температуры на способность родококков – эффективных нефтедеструкторов поглощать гексадекан // *Актуальная биотехнология*. 2016. № 3 (18). С. 103–106.
- [23] Чайка Н.Я., Режепова А.А., Ахметов Л.И., Пунтус И.Ф., Петриков К.В., Филонов А.Е. Особенности роста и продукции био-ПАВ психротрофного штамма-нефтедеструктора *Rhodococcus erythropolis* F2-2 при культивировании на разных субстратах в условиях низкой температуры // *Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания*. 2022. С. 284–286.

References

- [1] Ivanenko NV. *Ecological toxicology*. Study guide. Vladivostok: Publishing house of VSUES\$ 2006. 108 p. (In Russ.)
- [2] Neustroev MM. *Ecological assessment of oil-contaminated permafrost soils and the development of methods for their bioremediation* (abstract of the dissertation). Yakutsk; 2016. 16 p. (In Russ.)
- [3] Grechishcheva NYu. *Development of scientific bases of application of humic substances for elimination of consequences of oil pollution of soil and water environments* (diss. of candidate of chemical sciences). Moscow: MSU; 2016. 326 p. (In Russ.)
- [4] Herzen MM, Dmitrieva ED. The ability of humic acids to stabilize emulsions of oil and petroleum products; *Vestnik TvGU. Chemistry series*. 2020;3(41):103–111. <http://doi.org/10.26456/vtchem2020.3.11> (In Russ.)
- [5] Dmitrieva ED., Syundyukova KV., Leontieva MM., Glebov NN. Influence of the pH of the medium on the binding of heavy metal ions by humic substances and himatomelanic acids of peat. *Scientific notes of Kazan University. Natural sciences*. 2017;159(4):575–588. (In Russ.)
- [6] Gostischeva MV, Fedko IV, Pishnichenko EO. Comparative characteristics of methods for extracting humic acids from peat in order to obtain humic preparations. *Reports of Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics*. 2004;1(9):66–68. (In Russ.)

- [7] Izosimov AA. *Physico-chemical properties, biological activity and detoxifying ability of humic preparations differing in the genesis of organic raw materials*. Moscow; 2016. (In Russ.)
- [8] Maltseva EV, Yudina NV. Sorption of humic acids by quartz sands. *Solid fuel chemistry*. 2014;4:27–27. <http://doi.org/10.7868/S0023117714040082> (In Russ.)
- [9] Bakeeva RF, Karimullin RA, Kurabasheva RF, Gorbunova TS, Vakhitova OE, Sopin, VF. Micelle formation in a binary dimethyl sulfoxide-water solvent in the presence of NaCl. Planning and optimization of the experiment. *Liquid crystals and their practical use*. – 2017;17(2):51–61. <http://doi.org/10.18083/LCAppl.2017.2.51> (In Russ.)
- [10] Grechishcheva NYu, Han P, Budylin SV, Permnova IV, Meshcheryakov SV. Investigation of the binding ability of modified humic preparations with respect to pyrene in homogeneous and heterogeneous phases. *Environmental protection in the oil and gas complex*. 2011;6:24–29 (In Russ.)
- [11] Farmakovskaya TA, Novozhilova TI, Makartsev VV, Karasev AV, Konstantinova OV. Development of methods for determining the stability of fluorocarbon emulsions and forecasting their shelf life. *Chemistry and technology of organic substances*. 2017;1:90–99. http://doi.org/10.54468/25876724_2017_1_90
- [12] Boikova OI, Volkova EM. Chemical and biological properties of peat of the Tula region. *News of TulaSU. Natural sciences*. 2013;3:253–264. (In Russ.)
- [13] Herzen MM, Dmitrieva ED. The ability of humic acids of peat to stabilize emulsions of oil and petroleum products. *Bulletin of Tver State University. Series: Chemistry*. 2020;3:103–111. <http://doi.org/10.26456/vtchem2020.3.11> (In Russ.)
- [14] Herzen MM, Dmitrieva ED. Stabilizing ability of humic substances and microorganisms of the genus *Rhodococcus* in relation to petroleum products. *TvSU Bulletin. Chemistry series*. 2020;3(41):112–123. <http://doi.org/10.26456/vtchem2020.3.12> (In Russ.)
- [15] Grechishcheva NYu, Shchukina VD, Kholodov VA, Lazareva EV, Parfenova AM, Meshcheryakov SV, Perminova IV. Assessment of the ability of humic-clay complexes to stabilize oil emulsions in water. *Environmental protection in the oil and gas complex*. 2014;9:51–55. (In Russ.)
- [16] Nechaeva IA, Lyong TM, Satina VE, FilonovAE, Ponamoreva ON. The effect of temperature on the ability of rhodococci – effective petrodestructors to absorb hexadecane. *Actual biotechnology*. 2016;3(18):103–106. (In Russ.)
- [17] Yudina NV, Savelyeva AV, Lomovsky OI. Surface-active properties and biological activity of mechanoactivated humic acids isolated from peat. *Chemistry in the interests of sustainable development*. 2019;27(4):437–442. <http://doi.org/10.15372/KhUR2019156> (In Russ.)
- [18] Mozgovaya ND. *Investigation of the processes of association formation and surfaceactive properties of humic acids depending on the concentration and pH of the medium: thesis (project) of a specialist in the field of training*. 04.05. 01 – Fundamental and applied chemistry. 2018. (In Russ.)
- [19] Ji S, Jikuiang D, Pyu D, Ye L, Xiashuang C, Haili H. Preparation and evaluation of properties of stable foams obtained on the basis of heavy oil. *Petrochemistry*. 2017;57(2):226–234. <http://doi.org/10.7868/S0028242117020071> (In Russ.)
- [20] Rahman KSM, Banat IM, Thahira J, Thayumanavan T, Lakshmanaperumalsamy P. Bioremediation of gasoline contaminated soil by a bacterial consortium amended with poultry litter, coir pith and rhamnolipidbiosurfactant 300. K.S. Rahman, I.M. Banat, J. Tharira, T. Thauyumanavan, P. Lakshmanaperumalsamy. *Bioresource Technology*. 2002;81:25–32. [http://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00105-5](http://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00105-5)
- [21] Panov AV. Changing the composition of communities of destructive bacteria in conditions of contamination with stable organic compounds (abstract of the dissertation). Pushchino; 2013. 24 p. (In Russ.)

- [22] Nechaeva IA, Luong TM., Satina VE, Filonov AE, Ponamoreva ON. Influence temperatures on the ability of rhodococci – effective petrodestructors to absorb hexadecane. *Actual biotechnology*. 2016;3(18):103–106. (In Russ.)
- [23] Chaika NYa, Rejepova AA, Akhmetov LI, Puntus IF, Petrikov KV, Filonov AE. Features of growth and production of bio-surfactants of the psychrotrophic strain-oil destructor *Rhodococcus erythropolis* F2-2 when cultivated on different substrates at low temperature. *Mechanisms of adaptation of microorganisms to various environmental conditions*. 2022. p. 284–286. (In Russ.)

Сведения об авторах:

Герцен Мария Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории химии и экологии почв, ассистент кафедры медико-биологических дисциплин и фармакогнозии, Тульский государственный педагогический университет, Российская Федерация, 300026, Москва, проспект Ленина, д. 125. ORCID: 0000-0002-0026-4933, eLIBRARY SPIN-код 3989-8560. E-mail: mani.gertsen@gmail.com,

Гольшиева Анастасия Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории химической конверсии возобновляемой биомассы и органического синтеза, Тульский государственный университет, Российская Федерация, 300012, Москва, проспект Ленина, д. 92. ORCID: 0009-0004-5135-4455, eLIBRARY SPIN-код 1852-6831. E-mail: nastyagolysheva2000@yandex.ru

Переломов Леонид Викторович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии и экологии почв, доцент кафедры химии, Тульский государственный педагогический университет, Российская Федерация, 300026, Москва, проспект Ленина, д. 125. ORCID: 0000-0003-0507-4968, eLIBRARY SPIN-код 2695-0200. E-mail: perelomov@rambler.ru

Bio notes:

Maria M. Gertsen, Junior Researcher at the Laboratory of Chemistry and Soil Ecology, Assistant at the Department of Biomedical Disciplines and Pharmacognosy, Tula State Pedagogical University, 125 Lenin Avenue, Tula, 300026, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-0026-4933, eLIBRARY SPIN-code 3989-8560. E-mail: mani.gertsen@gmail.com

Anastasia N. Golyshcheva, Junior Researcher at the Laboratory of Chemical Conversion of Renewable Biomass and Organic Synthesis, Tula State University, 92 Lenin Avenue, Tula, 300012, Russian Federation. ORCID: 0009-0004-5135-4455, eLIBRARY SPIN-code 1852-6831. E-mail: nastyagolysheva2000@yandex.ru

Leonid V. Perelomov, PhD in Biology, Senior Researcher at the Laboratory of Chemistry and Ecology of Soils, Associate Professor, Department of Chemistry, Tula State Pedagogical University, 125 Lenin Avenue, Tula, 300026, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-0507-4968, eLIBRARY SPIN-code 2695-0200. E-mail: perelomov@rambler.ru