

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ДЕСТРУКЦИИ КОМПЛЕКСНЫХ С ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ВОДЫ

А.Д. Конон, А.П. Софилканич, Н.С. Антонюк, Т.П. Пирог
Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина

USE OF VICROBIAL SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES FOR DESTRUCTION OF OIL POLLUTANTS OF WATER IN COMPLEX WITH HEAVY METALS

A.D. Konon, A.P. Sofilkanych, N.S. Antonyuk, T.P. Pirog
National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

Водные системы способны накапливать большие количества различных по составу, физико-химическим свойствам и концентрации загрязняющих веществ. Наличие ксенобиотиков в окружающей среде является следствием их нецелевого использования, несовершенства технологий и очистных систем (Kavamura, Esposito, 2010). Никакой ксенобиотик по масштабам загрязнения и токсичности для окружающей среды не может сравниться с нефтью. Процессы её добычи, транспортировки и переработки постоянно сопровождаются аварийными выбросами сырья в окружающую среду (Kavamura, Esposito, 2010; Tyagi et al., 2011). Поскольку в последние годы на западнокамчатском шельфе идет активная нефтегазоразведка и планируется промышленное освоение месторождений углеводородов, в случае его реализации этот регион неизбежно столкнётся с проблемой загрязнения прибрежных вод нефтью и необходимостью их последующей очистки.

Литературные данные (Sriram et al., 2011) свидетельствуют, что загрязнения в экосистемах чаще всего являются комплексными (например, одновременное наличие как нефти, так и катионов металлов), поэтому поиск и разработка методов очистки, позволяющих удалять такие комбинированные загрязнения, актуальны.

На сегодняшний день наиболее эффективными для очистки экосистем от нефти и тяжелых металлов считаются биологические методы, основанные на использовании микроорганизмов и продуктов их метаболизма, в частности, поверхностно-активных веществ (ПАВ) (Banat et al., 2010).

Ранее из загрязненных нефтью образцов почвы были выделены нефтеокисляющие бактерии, идентифицированные как *Rhodococcus*

erythropolis IMB Ac-5017 и *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, установлена способность данных штаммов синтезировать поверхностно-активные вещества (Пирог и др., 2009; Пирог, Игнатенко, 2011).

Цель работы – исследовать влияние ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на эффективность деструкции комплексных с тяжелыми металлами нефтяных загрязнений воды.

В качестве препаратов ПАВ использовали постферментационную культуральную жидкость. При комплексном загрязнении нефтью и катионами металлов в воду вносили в различных комбинациях 0.01–1.0 мМ Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} в виде 1М растворов солей $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_4$ соответственно. Количество остаточной нефти определяли весовым методом после трехкратной экстракции гексаном.

На первом этапе исследовали возможность применения ПАВ для деструкции нефти в воде, содержащей различные концентрации катионов меди (табл. 1). Через 20 суток деградация нефти была существенно выше в вариантах, содержащих Cu^{2+} , причем такая закономерность наблюдалась для ПАВ обоих штаммов (IMB B-7241 и IMB Ac-5017). Анализ микрофлоры воды в течение эксперимента показал увеличение численности клеток во всех вариантах, однако в присутствии катионов меди и ПАВ количество клеток было в 1.3–1.5 раза выше, чем без Cu^{2+} .

На следующем этапе исследовали возможность применения ПАВ штамма IMB Ac-5017 для очистки воды, содержащей нефть (2.6 г/л) и катионы нескольких токсичных металлов в концентрации 0.01 мМ (табл. 2).

Таблица 1. Влияние катионов меди на деструкцию нефти в воде в присутствии ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017

Концентрация Cu^{2+} в воде, мМ	Деструкция нефти (%) после обработки препаратами ПАВ штамма	
	IMB B-7241	IMB Ac-5017
0	75.7	73.7
0.01	98.2	95.3
0.05	98.0	80.5
0.1	95.4	н.о.
0.5	90.8	н.о.
1.0	87.6	н.о.

Примечание. Начальная концентрация нефти в воде 3,0 г/л. Степень деструкции нефти в необработанной ПАВ и катионами меди воде 2,5 %. Н.о. – не определяли.

Как видно из представленных в таблицы 2 данных, степень деструкции нефти через 20 сут была максимальной в вариантах с Cu^{2+} (55–70 %), в то время как в присутствии Cd^{2+} и Pb^{2+} продеградировало всего 30 %

нефти. Аналогичные результаты получены при повышении концентрации каждого из катионов металлов в смеси до 0.1 мМ.

Таблица 2. Очистка воды от нефти препаратами ПАВ *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 в присутствии Cu^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+}

Смесь металлов в загрязненной нефтью воде	Концентрация остаточной нефти, г/л	Степень деструкции нефти, %
—	1.55 ± 0.08	49.5
$\text{Cu}^{2+} + \text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$	0.90 ± 0.04	70.0
$\text{Cu}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$	1.37 ± 0.07	55.4
$\text{Cu}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$	1.12 ± 0.06	62.7
$\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$	2.10 ± 0.10	30.2

Отметим, что в присутствии ПАВ *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 степень деструкции нефти (6.0 г/л) в воде, содержащей Cu^{2+} (1.0 мМ) и Cd^{2+} (0.5 мМ), через 30 сут составляла 85–88 %.

На следующем этапе мы предположили, что повышение степени деструкции нефти исследуемыми препаратами ПАВ в виде постферментационной жидкости в присутствии меди может быть обусловлено активирующим влиянием Cu^{2+} на активность алкангидроксилаз – первых ферментов катаболизма углеводов. Дальнейшие энзиматические анализы подтвердили наше предположение (табл. 3). Действительно, в присутствии 0,05 и 0.1 мМ активность алкангидроксилазы штамма ИМВ Ас-5017 повышалась в 1.5 и 2.0 раза соответственно. Более существенным (в 3 раза) было увеличение после внесения катионов меди активности алкангидроксилазы *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241.

Таблица 3. Активность алкангидроксилаз *R. erythropolis* ИМВ Ас-5017 и *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 в присутствии катионов меди

Концентрация Cu^{2+} , мМ	Активность алкангидроксилазы, нмоль·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹ белка	
	ИМВ В-7241	ИМВ Ас-5017
0	769 ± 38	1923 ± 96
0.01	870 ± 43	5769 ± 288
0.05	1154 ± 57	5769 ± 288
0.10	1538 ± 77	3846 ± 192

Другим механизмом, лежащим в основе высокой эффективности деструкции нефти препаратами ПАВ в присутствии катионов металлов, может быть проявление защитных функций ПАВ. Наши эксперименты показали, что удаление ПАВ сопровождалось гибелью всех клеток

A. calcoaceticus IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 в присутствии Cu^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+} (0,05–0,1 мМ), в то время как при наличии ПАВ в аналогичных условиях выживало до 60–70 % клеток.

Дальнейшие исследования показали, что ПАВ исследуемых штаммов проявляют защитные функции и по отношению к нативной микрофлоре воды. Так, выживаемость клеток после обработки катионами тяжелых металлов (0,01–0,05 мМ) в суспензии, содержащей ПАВ, составляло 80–100 %, в то время как в вариантах без ПАВ – 0–59 %.

Таким образом, в результате проведенной работы показана высокая эффективность применения невысоких концентраций препаратов ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 в виде культуральной жидкости для очистки воды от нефти в присутствии катионов токсичных металлов.

ЛИТЕРАТУРА

Пирог Т.П., Антонюк С.И., Карпенко Е.В., Шевчук Т.А. 2009. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 на синтез поверхностно-активных веществ // Прикл. биохимия и микробиология. Т. 45. № 3. С. 304–310.

Пирог Т.П., Игнатенко С.В. 2011. Масштабирование процесса биосинтеза поверхностно-активных веществ *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гексадекане // Прикл. биохимия и микробиология. Т. 47. № 4. С. 436–442.

Banat I., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M., Fracchia L., Smyth T., Marchant R. 2010. Microbial biosurfactants production, applications and future potential // Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 87. № 2. P. 427–444.

Kavamura V.N., Esposito E. 2010. E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soil polluted with heavy metals // Biotechnol. Adv. Vol. 28. № 1. P. 61–69.

Sriram M.I., Gayathiri S., Gnanaselvi U., Jenifer P.S., Mohan Raj S., Gurunathan S. 2011. Novel lipopeptide biosurfactant produced by hydrocarbon degrading and heavy metal tolerant bacterium *Escherichia fergusonii* KLU01 as a potential tool for bioremediation // Bioresour. Technol. V. 102. № 19. P. 9291–9295.

Tyagi M., da Fonseca M.M., Carvalho C.C. 2011. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes // Biodegradation. Vol. 22. № 2. P. 231–241.