

**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 MICROBIAL 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 столкнется с проблемой загрязнения прибрежных вод нефтью и необходимостью их последующей очистки.

Литературные данные (Srigam 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 таблице 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 В-7241 и *R. erythropolis* IMB Ас-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 В-7241 и *R. erythropolis* IMB Ас-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* К-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.