

ОКИСЛЕНИЕ БАКТЕРИЯМИ ШТАММА *ACINETOBACTER* SP. ИБ ДТ-5.1/1 НЕФТИ И НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ

© С.Р. Мухаматдьярова, Т.Ю. Коршунова, О.Н. Логинов

Штамм *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1 проявляет повышенную окислительную активность в отношении нефти, продуктов ее переработки и индивидуальных углеводородов, что делает перспективным его применение для очистки почв от нефтяного загрязнения.

Ключевые слова: нефтеструкция, окислительная активность, штамм *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1.

В результате разливов нефти и нефтепродуктов, главным образом в процессе добычи и транспортировки, огромные территории подвергаются загрязнению, которое является причиной нарушения биологических, физических и химических свойств почвы. На нефтяное воздействие первыми реагируют биологические свойства: изменяется структура микробоценозов, их качественный и количественный состав, интенсивность микробиологических процессов и активность почвенных ферментов, продуктивность и т.д. Последствия зависят от параметров загрязнения: состава и свойств нефти и нефтепродуктов, концентрации, продолжительности загрязнения, а также от эколого-географического положения почвы, определяющего скорость трансформации нефти и ее эколого-генетических особенностей, от которых зависит устойчивость к химическому загрязнению [1–3]. Ущерб от нефтезагрязнения очень велик – от снижения качества и продуктивности почв до появления участков, абсолютно непригодных для какой-либо хозяйственной деятельности [4]. Поэтому исключительную актуальность приобретает проблема рекультивации нефтезагрязненных земель.

Существующие механические, термические и физико-химические методы очистки от нефтяных загрязнений дорогостоящи, небезопасны и не обеспечивают полноты удаления поллютантов. В настоящее время наиболее перспективным как в экономическом, так и в экологическом плане является биотехнологический подход, основанный на использовании различных групп микрооргани-

мов, отличающихся повышенной способностью к деградации компонентов нефти и нефтепродуктов [1]. Реализация такого метода требует выделения специфических штаммов микроорганизмов, а также определения их редуцирующей активности в процессах биодеградации нефтяных углеводородов различных классов.

Способность усваивать углеводороды присуща микроорганизмам, представленным различными систематическими группами. К ним относятся различные виды микромицетов, дрожжей и бактерий. Наиболее часто активные деструкторы нефти и нефтепродуктов встречаются среди бактерий, что обеспечивается наличием у них специфических ферментных систем, осуществляющих катаболизм таких соединений [4–5]. Они характеризуются способностью к усвоению широкого спектра углеводородов, включая и ароматические, обладают высокой скоростью роста и, следовательно, представляют большой практический интерес в качестве основы биопрепаратов для очистки от нефтезагрязнений. Так, например, грамотрицательные бактерии рода *Acinetobacter* – свободноживущие гетеротрофы, распространенные практически повсеместно (в почве, воде, сточных водах, пище, на коже человека), характеризуются метаболической универсальностью и играют важную роль в коммерчески важных промышленных процессах, а также способны (в составе микробных сообществ) разлагать соединения, токсичные для большинства микроорганизмов [6].

МУХАМАТДЬЯРОВА Светлана Ринатовна, Институт биологии УНЦ РАН, e-mail: svetarm@gmail.com
КОРШУНОВА Татьяна Юрьевна – к.б.н., Институт биологии УНЦ РАН, e-mail: korshunovaty@mail.ru
ЛОГИНОВ Олег Николаевич – д.б.н., Институт биологии УНЦ РАН, e-mail: biolab316@yandex.ru

Биодеградация, то есть окисление молекул загрязняющих веществ в результате деятельности бактерий, является основным, а порой и единственным процессом самоочищения почв от большинства углеводородов нефти. Интенсивность испарения компонентов нефти в несколько раз меньше, чем интенсивность их биоразложения [7]. Подверженность углеводородов биодеградации зависит от их класса, концентрации в среде, разветвленности и длины углеродной цепочки, наличия в соединении галогенов, кислорода или других гетерогенных атомов. Кроме того, способность к окислению зависит от штамма микроорганизмов и условий их жизнедеятельности (аэрации, содержания CO_2 в воздухе и проч.). Наиболее доступны для биодеструкции n-алканы C_{12} - C_{18} , труднее всего разлагаются биологическим способом полициклические ароматические углеводороды. Нефть и ее фракции обладают, как правило, средней доступностью для микроорганизмов, однако токсичность сырой нефти часто бывает усугублена примесями сернистых соединений и тяжелыми металлами. Степень деструкции углеводородов коррелирует с увеличением численности и оксигеназной активности микроорганизмов. Микробное окисление углеводородов нефти происходит через серию каталитических процессов с образованием промежуточных продуктов метаболизма – спиртов, альдегидов, кетонов, жирных и карбоновых кислот, которые в конечном итоге окисляются до углекислого газа.

Целью работы является изучение спектра окислительной способности в отношении индивидуальных углеводородов, нефти и продуктов ее переработки бактерии *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1.

Условия эксперимента. Окислительную активность штамма *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1, изолированного из серой лесной почвы, загрязненной дизельным топливом, определяли по конечному продукту окисления, т.е. по выделению углекислого газа.

Культивирование микроорганизмов проводили в колбах объемом 500 мл. В качестве питательной среды использовали 250 мл среды Диановой-Ворошиловой [8] для углеводородоксилирующих бактерий с добавлением 1% (2,5 мл) ис-

точника углерода и 5 мл трехсуточной культуры бактерий с содержанием клеток $1,0 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. В герметично закрытые колбы подавали стерильный воздух со скоростью 520 мл/мин. Потом его улавливали поглотителем углекислого газа, в качестве которого использовали 200 мл 0,1 н. гидроксида натрия. Из колб с поглотителем посуточно отбирали аликвоту 10 мл и оттитровывали 0,1 н. соляной кислотой. Окислительную активность определяли по количеству образовавшегося углекислого газа, оттитрованного кислотой.

В экспериментах при тех же условиях был использован контрольный образец – с реактивами, нефтепродуктами, но без микроорганизмов. Длительность эксперимента составляла 3 суток.

Результаты и их обсуждение. Результаты определения окислительной активности микроорганизма *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1 по отношению к индивидуальным углеводородам парафинового ряда (гептан, декан, ундекан, додекан), нафтеновым углеводородам (циклогексан), ароматическим углеводородам (бензол, толуол, о-ксилол, нафталин), нефти и нефтяным фракциям (дизельное топливо, базовое смазочное масло, парафин, церезин), к некоторым окисленным углеводородам (изопропиловый спирт, гексадеканол, фенол) приведены в таблице.

Т а б л и ц а

Окислительная активность штамма
Acinetobacter sp. ИБ ДТ-5.1/1

Субстрат	Окислительная активность, мг CO_2 /г субстрата
Гептан	113
Декан	104
Ундекан	161
Додекан	153
Циклогексан	90
Изопропропанол	71
Гексадеканол	215
Фенол	30
Бензол	69
Толуол	81
О-ксилол	92
Нафталин	53
Нефть	112
Дизельное топливо	138
Смазочное масло	104
Парафин	127
Церезин	18

Как следует из представленных данных, бактерии *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1 обладают достаточно высокой окислительной способностью по отношению к веществам различного химического строения.

Окисление микроорганизмами углеводов связывается с наличием у них ферментной оксигеназной системы, позволяющей им включать молекулярный кислород непосредственно в углеводород, образуя при этом окисленные соединения. В связи с этим можно предположить, что оксигеназная система штамма *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1 более специфична для линейных углеводов, чем для ароматических – его окислительная активность в отношении алканов весьма значительна и составляет 104–161 мг CO₂/г субстрата.

Ароматические соединения представляют собой наиболее опасную группу веществ с точки зрения воздействия на живые организмы. От углеводов с открытой цепью и циклоалканов они отличаются лучшей растворимостью в воде. Для их поступления в микробную клетку обязательно наличие гидрофобных внешних слоев. Проникая в клетки, ароматические углеводороды нарушают проницаемость мембран, блокируют действие ряда ферментов, т.е. представляют собой клеточные яды. Несмотря на высокую токсичность аренов и их производных, изучаемый штамм обладает значительной окислительной активностью по отношению к этим соединениям (69–92 мг CO₂/г субстрата). Микроорганизмы *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1 способны окислять не только саму нефть (112 мг CO₂/г субстрата), но и ее тяжелые фракции, такие как дизельное топливо (138 мг CO₂/г субстрата), смазочное масло (104 мг CO₂/г субстрата).

Таким образом, штамм *Acinetobacter* sp. ИБ ДТ-5.1/1 обладает высокой окислительной способностью по отношению к широкому спектру не-

фтяных углеводородов, нефти и нефтепродуктов, что создает предпосылки для его использования в качестве основы биопрепарата для очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трофимов С.Я., Аммосова Я.М., Орлов Д.С. и др. Влияние нефти на почвенный покров и проблема создания нормативной базы по влиянию нефтезагрязнения на почвы // Вестник МГУ. Сер. 17. Почвоведение. 2000. № 2. С. 30–34.
2. Пиковский Ю.И., Геннадиев А.Г., Чернянский С.С., Сахаров Г.Н. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами // Почвоведение. 2003. № 9. С. 1132–1140.
3. Колесников С.И., Азнаурьян Д.К., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Устойчивость биологических свойств почв юга России к нефтяному загрязнению // Экология. 2010. № 5. С. 357–364.
4. Кураков А.В., Ильинский В.В., Котелевцев С.В., Садчиков А.П. Биоиндикация и реабилитация экосистем при нефтяных загрязнениях. М.: Графикон, 2006. 336 с.
5. Логинов О.Н., Силищев Н.Н., Бойко Т.Ф., Галимзянова Н.Ф. Биотехнологические методы очистки окружающей среды от техногенных загрязнений. Уфа: Реактив, 2000. 100 с.
6. Данг Т.Т., Логинова О.О., Белоусова Е.В. и др. Перспективы использования бактерий рода *Acinetobacter* для деградации почвенных нефтяных загрязнений // Проблемы региональной экологии. 2011. Вып. 4. С. 202–208.
7. Güenther T., Dornberger U., Fritsche W. Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil // Chemosphere. 1996. V. 33, № 2. P. 203–215.
8. Дзержинская И.С. Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2008. 348 с.

OXIDATION OF OIL AND OIL HYDROCARBONS BY BACTERIA *ACINETOBACTER* SP. STRAIN IB DT-5.1/1

© S.R. Mukhamatdyarova, T.Yu. Korshunova, O.N. Loginov

Bacteria *Acinetobacter* sp. strain IB DT-5.1/1 exhibit increased oxidizing activity with respect to oil, refined products and individual hydrocarbons making them a promising application to treat soils from oil pollution.

Key words: oil destruction, oxidizing activity, strain *Acinetobacter* sp. IB DT 5.1/1.