

*С. А. АБДРАШИТОВА\**, *С. А. АЙТКЕЛЬДИЕВА\**, *Ж. А. ТЛЕУЛИНА\**, *А. А. КУРМАНБАЕВ\**,  
*М. А. ИЛЮЩЕНКО\*\**, *Г. А. УСКОВ\*\**, *В. ДЭВИС-ХУВЕР\*\*\**, *Р. ДЕВЕРЕКС\*\*\**

## **ОБРАЗОВАНИЕ МЕТИЛОВОЙ РТУТИ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ, УСТОЙЧИВЫМИ К РТУТИ**

Биологическое метилирование ртути микроорганизмами играет большую роль в образовании метиловой ртути в водных системах и илах и может представлять собой важное связующее звено в круговороте ртути.

Важность процессов метилирования становится еще более очевидной, если сравнить поведение метилртути (MeHg) и неорганических форм этого металла. Природные формы неорганической ртути почти нерастворимы в воде и

характеризуются устойчивостью к окислению и образованию ионов. Эти соединения ртути очень слабо поглощаются организмами, а проникнув в них, концентрируются преимущественно в печени и почках и постепенно выводятся из них. В отличие от неорганических форм ртути метилртуть почти полностью поглощается живыми организмами и медленно, в очень незначительных количествах выводится из них. Вследствие этого при попадании метилртути в организм даже

в очень малых количествах она накапливается в различных тканях и, обладая токсическими свойствами, вызывает тяжелые поражения, которые приводят к трагическим последствиям. Экологический и санитарно-гигиенический эффект загрязнения окружающей среды ртутью резко увеличивается в результате происходящей в природе трансформации менее опасных форм этого металла в наиболее токсичное соединение – метилртуть. Метилртуть имеет высокую растворимость в липидах и растворителях, а также способна быстро связываться с сульфгидрильными группами белков. Метилртуть – потенциальный нейротоксин и может накапливаться в пищевой цепи, чем создает потенциальную угрозу для здоровья [1].

Ртутный цикл является самым хорошо известным примером микробного метаболизма, влияющего на химическую форму тяжелого металла. Микробная активность связана с метилированием ртути, диметилированием, деметилированием, окислением и восстановлением неорганической ртути [2, 3]. Основными метиляторами ртути в анаэробных условиях служат сульфатредуцирующие бактерии.

Почвы и подземные воды пригорода Павлодара загрязнены хлоридом ртути вследствие деятельности в 1970–1990-е годы завода «Химпром». Загрязненные подземные воды могут попасть в реку Иртыш, которая протекает в 5 км от завода. В связи с этим представляло интерес выяснить, существуют ли в почвах и илах, загрязненных ртутью, анаэробные сульфатредуцирующие бактерии, способные метилировать ртуть.

Целью настоящей работы явилось выделение из загрязненных почв и илов пригорода Павлодара устойчивых к ртути сульфатредуцирующих бактерий и изучение условий, при которых эти бактерии могут осуществлять метилирование ртути.

### Материалы и методы

Для выделения сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) использовали среду Постгейта «В» с лактатом Са и модифицированную среду Постгейта «В», в которой лактат Са заменили на ацетат Na (1,5 г/л).

Использовались концентрации  $\text{HgCl}_2$  0,005, 0,02 и 0,05 mM, которые вносили в среду. Сероводород определяли йодометрическим методом [4].

Ртуть общую и метиловую в пробах анализировали по методу холодного пара с помощью атомно-флуоресцентного спектрометра (AFS) Millenium Merlin PSA 10.025 (ИК) в соответствии с методикой фирмы – изготовителя прибора [5].

### Результаты и их обсуждение

Из проб почвы и илов пригорода Павлодара было выделено 9 штаммов СРБ, которые были проверены на их способность расти в среде с ртутью и эффективно образовывать  $\text{H}_2\text{S}$  (табл. 1). Из выделенной коллекции СРБ для последующей работы были отобраны два штамма СРБ № 12 и 8а, которые хорошо росли в среде с лактатом и ацетатом.

Таблица 1. Количество  $\text{H}_2\text{S}$ , образуемого СРБ на разных средах, мг/л (среднее из трех определений)

№ штамма	Концентрация $\text{HgCl}_2$ , mM			
	0	0,005	0,02	0,05
Среда с лактатом				
13	11,33	11,62	30,03	22,67
12а	48,17	54,68	40,80	72,25
12	62,62	52,42	74,57	66,22
11	2,27	0,00	38,82	20,97
10	47,32	4,82	46,75	58,93
9а	63,18	31,73	94,92	82,17
9	70,83	83,02	98,03	61,20
8а	111,35	95,48	134,02	102,28
8	57,80	86,75	107,67	69,32
Среда с ацетатом				
13	14,17	20,12	14,02	23,65
12а	15,30	15,58	27,05	29,04
12	8,50	21,25	23,94	25,07
11	5,67	7,93	11,75	13,17
10	8,78	13,96	15,72	18,27
9а	18,98	20,97	25,92	21,67
9	9,92	15,30	24,22	21,67
8а	9,35	15,13	19,97	24,79
8	11,33	10,82	24,79	26,49

Устойчивость к  $\text{HgCl}_2$  отобранных штаммов изучали на среде Постгейта «В», содержащей в качестве источника органического вещества лактат или ацетат. Была исследована способность СРБ расти при концентрациях  $\text{HgCl}_2$ : 0,005, 0,02 и 0,05mM. Об активности бактерий судили по количеству образуемого ими  $\text{H}_2\text{S}$ . Результаты, представленные на рис. 1, показали, что СРБ штаммы № 12 и 8а устойчивы к исследуемым концентрациям  $\text{HgCl}_2$ .

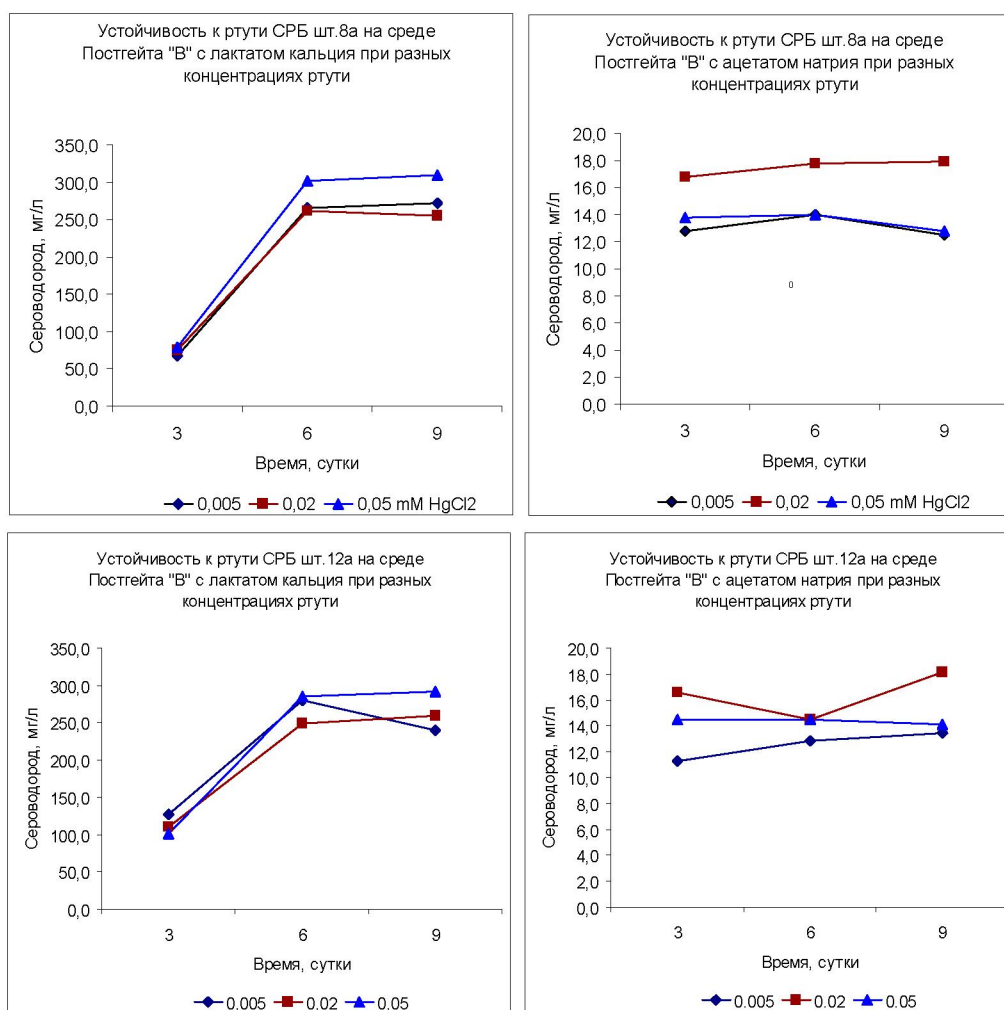


Рис. 1. Устойчивость СРБ (штаммы 8а и 12) к различным концентрациям ртути при росте с лактатом или ацетатом

При работе с отобранными штаммами СРБ проверили эффективность исследуемых бактерий для осаждения ртути. Для этого определяли содержание общей ртути в растворе при развитии СРБ и осаждение ртути в виде HgS. Предполагалось выбрать такие условия для штаммов СРБ, при росте которых ртуть общая в растворе или не будет обнаруживаться, или ее количество будет минимальным. Известно, что для осаждения 1 моля HgCl<sub>2</sub> требуется 1 моль H<sub>2</sub>S, а так как исследуемые бактерии продуцируют значительно большее количество H<sub>2</sub>S, то среда при росте СРБ насыщена H<sub>2</sub>S и присутствующая в среде ртуть должна полностью осаждаться.

Вместе с тем обнаружение Hg<sub>общ</sub> в фильтрате в присутствии СРБ может косвенно свидетельствовать об образовании или органической формы ртути (MeHg), или растворимых полисульфидов.

Эксперименты по подбору наиболее эффективного способа разделения осадка HgS и бактерий для определения содержания ртути в фильтрате при развитии сульфатредуцирующих бактерий показали, что после фильтрации культуральной жидкости с СРБ через фильтр "синяя лента" проходит достаточно большое количество Hg<sub>общ</sub>, которая затем задерживается на мембранном фильтре. Баланс по содержанию Hg<sub>общ</sub>, найденной на фильтре "синяя лента", на мембранном фильтре и в фильтрате, имел достаточно хорошую сходимость для большинства проанализированных проб (рис. 2, а, б). Поэтому последующие эксперименты по подбору условий для исследуемых штаммов СРБ, способных максимально осаждать ртуть в виде HgS, проводили путем отделения осадка HgS и бактерий методом фильтрации сначала через фильтр "синяя лента", а за-

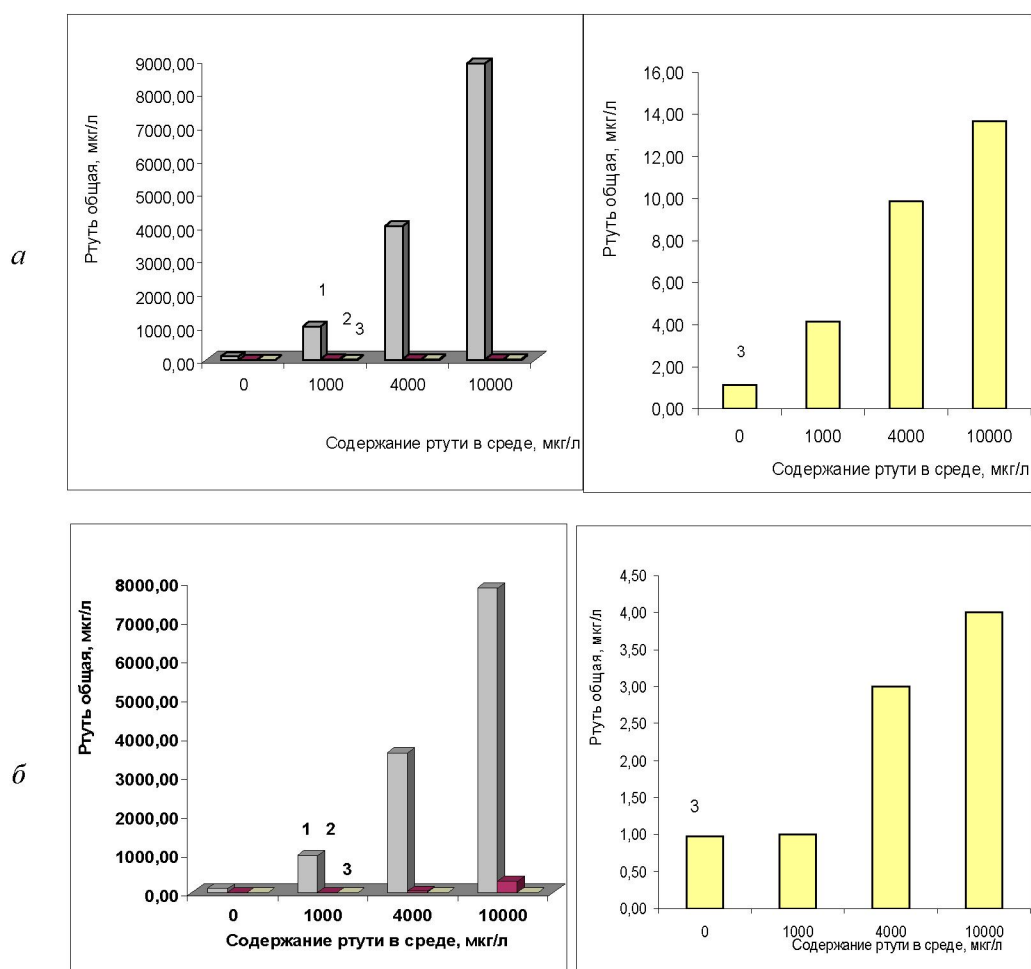


Рис. 2. Эффективность фильтрации на среде лактатом (а) и с ацетатом (б).  
1 – фильтр «синяя лента»; 2 – мембранный фильтр; 3 – фильтр

тем через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Сравнение эффективности осаждения ртути из раствора СРБ, выращенных на среде Постгейта «В» с лактатом или ацетатом, показало, что наиболее высокое содержание  $Hg_{общ}$  отмечено в вариантах при росте штамма №12 с лактатом. При росте бактерий с ацетатом в фильтрате количество  $Hg_{общ}$  было значительно ниже (рис. 3). Определение содержания  $H_2S$  в среде показало, что СРБ образуют его в количестве, достаточном для осаждения ртути (рис. 4).

Аналогичные данные получены и в экспериментах с использованием штамма 8а.

При росте исследуемых СРБ в среде с ацетатом количество  $Hg_{общ}$  было существенно меньше и в преобладающем числе проб на уровне ошибки анализа. Это позволяет предполагать, что при росте СРБ с ацетатом в фильтрате растворимая

ртуть или отсутствует, или образуется в минимальном количестве. Таким образом, используя ацетат в качестве источника органического вещества для исследуемых штаммов СРБ, можно существенно уменьшить количество растворимой ртути в растворе.

Следующим этапом работы было исследование возможности СРБ образовывать метиловую ртуть ( $MeHg$ ), которая изучалась при выращивании бактерий на среде, содержащей в качестве источника органического вещества лактат, так как предыдущие эксперименты показали, что при росте с ацетатом количество растворимой ртути обнаруживается в пределах ошибки опыта. Эксперименты проводили с использованием СРБ, посеянных в среду Постгейта «В» с лактатом при концентрации  $HgCl_2$  в среде 0,05 мМ. Определение содержания  $MeHg$  и  $Hg_{общ}$  в среде с СРБ и в контроле без бактерий проводили через 12 суток эксперимента.

Таблица 2. Содержание общей и метиловой ртути в культуральной жидкости при росте СРБ (штамм 8а) на среде Постгейта «В» с лактатом (12 суток выращивания)

Исходное содержание HgCl <sub>2</sub> , mM	Исходное содержание Hg <sup>++</sup> , мкг/л	Повторности	Содержание ртути в растворе, мкг/л	
			Hg <sub>общ</sub>	MeHg <sup>+</sup>
0	0	1	3,7	<0,5
		2	2,5	<0,5
		3	1,5	<0,5
		4	1,0	<0,5
0,05	10000	1	1,6	0,5
		2	2,6	1,3
		3	2,9	1,3
		4	2,5	1,3

Таблица 3. Контроль без бактерий (к эксперименту со штаммом СРБ №8а через 12 суток инкубирования)

Исходное содержание HgCl <sub>2</sub> , mM	Исходное содержание Hg <sup>++</sup> , мкг	Повторности	Содержание ртути в растворе, мкг/л	
			Hg <sub>общ</sub>	MeHg <sup>+</sup>
0	0	1	4,7	<0,5
		2	4,6	<0,5
		3	3,5	<0,5
		4	1,3	<0,5
0,05	10000	1	886	3,4
		2	790	3,5
		3	1160	3,7
		4	1160	71,6

Таблица 4. Содержание общей и метиловой ртути в культуральной жидкости при росте СРБ (штамм 12) на среде Постгейта «В» с лактатом (12 суток выращивания)

Исходное содержание HgCl <sub>2</sub> , mM	Исходное содержание Hg <sup>++</sup> , мкг/л	Повторности	Содержание ртути в растворе, мкг/л	
			Hg <sub>общ</sub>	MeHg <sup>+</sup>
0	0	1	<1	<0,5
		2	<1	<0,5
		3	<1	<0,5
		4	<1	<0,5
0,05	10000	1	-	3,2
		2	10,3	2,4
		3	9,3	2
		4	15	2,1

Таблица 5. Контроль без бактерий (к эксперименту со штаммом №12 через 12 суток инкубирования)

Исходное содержание HgCl <sub>2</sub> , mM	Исходное содержание Hg <sup>++</sup> , мкг/л	Повторности	Содержание ртути в растворе, мкг/л	
			Hg <sub>общ</sub>	MeHg <sup>+</sup>
0	0	1	<1	<0,5
		2	<1	<0,5
		3	<1	<0,5
		4	<1	<0,5
0,05	10000	1	1400	5,7
		2	1800	5,5
		3	3200	8
		4	1700	9

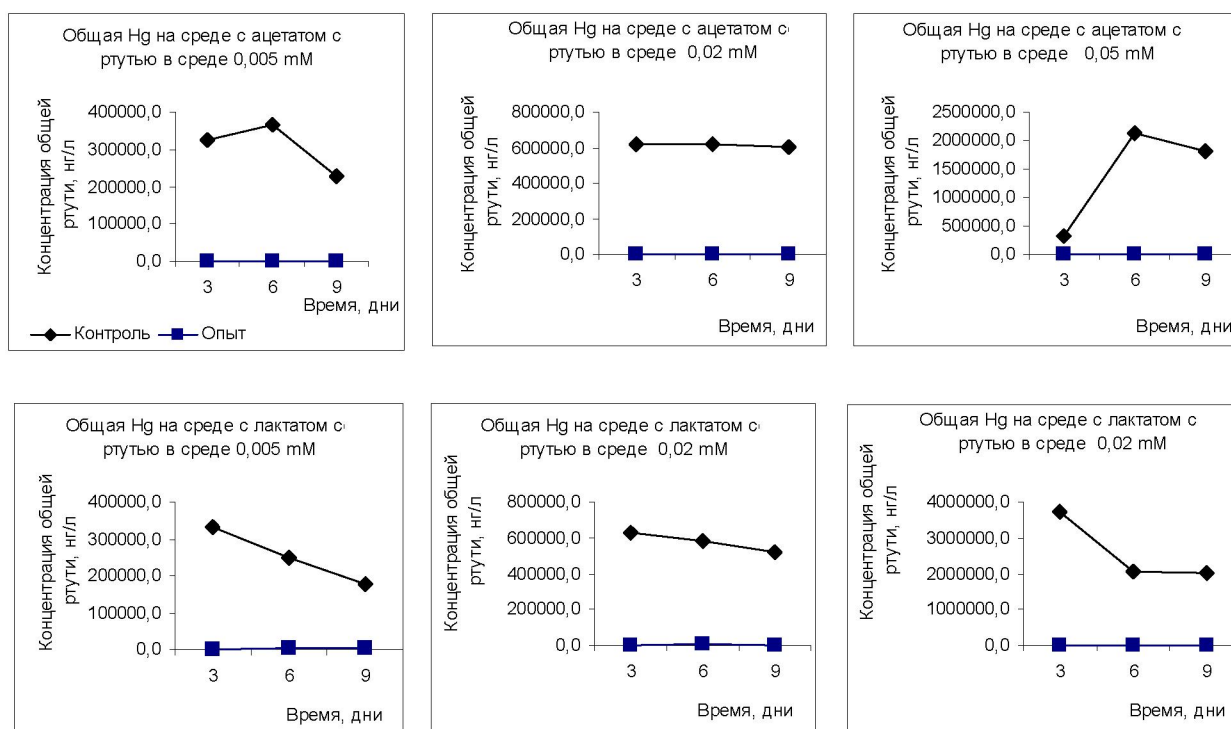


Рис. 3. Содержание  $Hg_{общ}$  в фильтрате при росте СРБ (штамм 12). 1 – контроль без бактерий; 2 – штамм 12

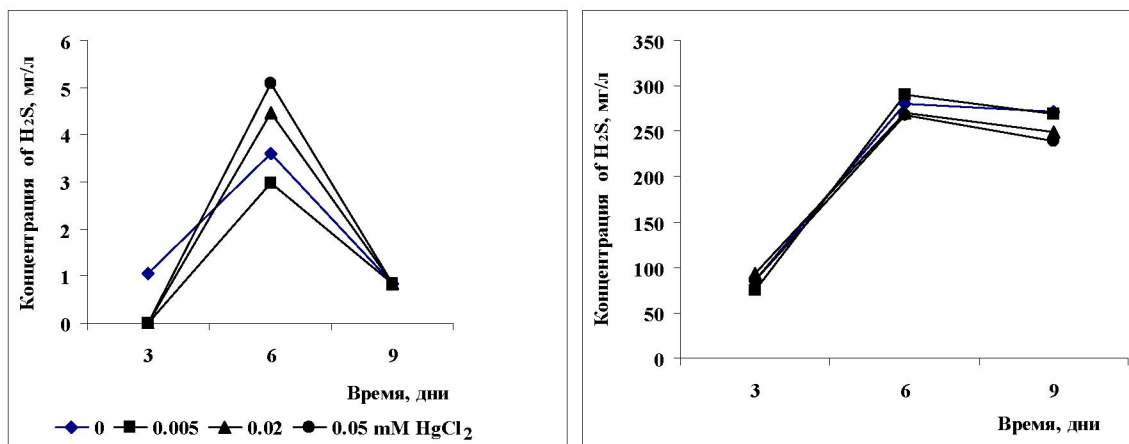


Рис. 4. Содержание  $H_2S$  при росте штамма 12 на среде с ацетатом (а) и лактатом (б)

Полученные результаты представлены в табл. 2–5 и свидетельствуют о том, что при росте СРБ в среде с лактатом количество  $MeHg$  в растворе составляет 45,8% от общей ртути, обнаруженной в культуральной жидкости для штамма СРБ №8а, и 21% для штамма СРБ №12, тогда как в контрольных вариантах без бактерий эта величина составила 2 и 0,3% соответственно.

Таким образом, при росте исследуемых штаммов СРБ в среде с лактатом образуется  $MeHg$ . Причем количество обнаруживаемой  $MeHg$  мень-

ше, чем содержание  $Hg_{общ}$  в растворе. Это позволяет предполагать, что наряду с  $MeHg$  при росте исследуемых бактерий с лактатом могут образовываться и растворимые полисульфиды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Westoo B. Methylmercury as percentage of total mercury in flesh and viscera of salmon and sea trout of various ages // Science. 1973. V. 181. P. 576-568.
2. Silver S. Changiging metal cycles and human health. Rept. Dahlem Workshop, Berlin, March 20-25, 1983, Berlin e.a., 1984. P. 199-223.

3. Ulrich S.M., Tanton T.W., Abdrashitova S.A. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting mutilation // Critical reviews in environmental science and technology. 2001. V. 31, N 3. P. 241-293.

4. Родина А.Г. Методы водной микробиологии. Л.: Наука, 1965. 360 с.

5. Millenium Merlin method for total mercury in drinking; surface, ground, industrial and domestic waste and saline waters. – Customer technical information file. Issue #4.2 Date: November 2-2000. Produced by PS. Analitical LTD Arthur House, Kent PR53HP, England.

### Резюме

Сынапты метилдендіру мәселесі қарастырылған. Экспериментте сульфатты тотықсыздандыру үрдісіне қатыстын бактериялардың лактат қосқан ортада өскен кезде метилсынаптан басқа полисульфидтің пайда болуы анықталады.

### Summary

In article the problem of methylation of mercury is considered by the example of two strains of sulphate reducing bacteria, steady against mercury. The data of experiments allow to assume, that alongside with MeHg at growth of researched bacteria with lactate can be formed and soluble polysulfides.

УДК 576.8:628

\*Институт микробиологии  
и вирусологии МОН РК,

\*\*Алматинский институт  
энергетики и связи МОН РК, г. Алматы;

\*\*\*United States Environmental  
Protection Agency, USA

Поступила 7.03.06г.