

С. А. АБДРАШИТОВА<sup>1</sup>, С. А. АЙТКЕЛЬДИЕВА<sup>1</sup>, Ж. А. ТЛЕУЛИНА<sup>1</sup>,  
А. А. КУРМАНБАЕВ<sup>1</sup>, В. Ж. ДЭВИС-ХУВЕР<sup>2</sup>, Р. ДЕВЕРЕКС<sup>2</sup>, О. В. АЛЬСЕНОВА<sup>1</sup>

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРИГОРОДА ПАВЛОДАРА, С РАСТВОРИМЫМИ ФОРМАМИ РТУТИ

Негативное влияние на среду обитания тяжелых металлов не ограничивается накоплением в природной среде токсичных элементов и соединений, непосредственно воздействующих на биоценозы и человека: оно вызывает также нарушения глобального химического и теплового баланса Земли. Среди огромного разнообразия химических веществ и соединений, поступающих в природную среду, очень важно выделить наиболее опасные, одним из которых является ртуть. Ртуть относится к приоритетным загрязнителям, так как оказывает фактическое и потенциально возможное негативное воздействие на человека, экосистемы и климат, способна накапливаться в пищевых цепях, образует токсичные продукты химической трансформации и подвижна в окружающей среде.

Для Республики Казахстан, имеющей огромные запасы минерального сырья и большое количество металлургических заводов по их переработке, проблема антропогенного загрязнения биосферы токсичными неорганическими ионами весьма актуальна. Наибольшую опасность представляет ртутное загрязнение в Темиртау и Павлодаре. Мониторинговые исследования показали, что поверхностные воды р. Нуры (г. Темиртау) и подземные воды ее долины содержат значительное количество ртути. В северном пригороде г. Павлодара под производственным зданием завода по производству хлора и щелочи содержится приблизительно 1000 т ртути и, как следствие, почва и подземные воды загрязнены ртутью.

Масштабы загрязнения биосферы ртутью требуют понимания механизмов взаимодействия микроорганизмов с этим металлом для прогнозирования рисков, связанных с ртутным загрязнением, и разработки биотехнологий очистки загрязненных вод.

Микроорганизмы принимают активное участие в процессах трансформации ртути в окружающей среде. Они способны окислять соединения ртути, восстанавливать ее, метилировать

и осаждать в виде нерастворимого сульфида. Наиболее интересна в плане использования деятельности микроорганизмов для биоремедиации загрязненных ртутью грунтовых и промышленных сточных вод способность бактерий поглощать растворимую ртуть с последующим ее восстановлением в клетках бактерий и выбросом ее из клетки в виде металлической ртути, что свойственно аэробным формам бактерий, а также способность анаэробных и некоторых факультативно-анаэробных бактерий образовывать в процессе жизнедеятельности сероводород, при взаимодействии с которым растворимые формы ртути образуют сульфат ртути и выпадают в практически нерастворимый осадок. Отрицательным моментом последнего процесса является то, что при анаэробной сульфатредукции наряду с образованием сульфида ртути может происходить образование метилового ртути, которая является высокотоксичной для человека и накапливается по пищевой цепи в экосистемах. В то же время, регулируя некоторые условия среды, количество образующейся метилового ртути при росте сульфатредуцирующих бактерий можно свести до минимума.

Задача настоящей статьи – выяснить, какие трансформации ртути способны осуществлять аэробные и анаэробные бактерии, присутствующие в загрязненных почвах и илах пригорода Павлодара, с целью оценить возможность использования их для разработки биотехнологии очистки грунтовых вод от ртути.

Результаты изучения илов со дна накопителя Балкылдак свидетельствуют о высокой мозаичности распределения ртути (колебания концентраций ртути составляют от 0,15 до 439,2 ppm). Анализ грунтовых вод показал необычайно высокий уровень (до 3 ppm) загрязнения ртутью подземных вод, поступающих из спецрудов в накопитель Балкылдак.

Определение содержания ртути в образцах полевых проб грунтовых вод показало, что источником поступления ртути через грунтовые

воды в оз. Балкылдак являются спецпруды отходов ртути завода «Химпром». Так, в воде из скв. № 4 было обнаружено 0,0196 мг/л ртути, что превышает ПДК для рыбохозяйственных водоемов в 196 раз и в 39,2 раза превышает ПДК для сточных вод. В воде из скв. №5 было обнаружено 0,014 мг/л ртути, что превышает ПДК для рыбохозяйственных водоемов в 140 раз и в 28 раз выше ПДК для сточных вод.

Из загрязненных почв и илов были выделены аэробные и анаэробные бактерии, которые отбирались по признаку устойчивости к растворимым формам ртути. Использовались

следующие концентрации  $HgCl_2$ : 0,005; 0,02 и 0,05 мМ.

Коллекция аэробных бактерий, устойчивых к ртути, была проверена на способность поглощать растворимую ртуть внутрь клетки. Результаты показали, что аэробные бактерии способны поглощать до 121 мкг ртути на грамм сырой биомассы клеток. Этот эксперимент позволил отобрать для дальнейшей работы 3 штамма аэробных бактерий, относящихся к роду *Pseudomonas* (штаммы KS28, 52 и 19), которые поглощали большое количество ртути и имели хорошую скорость роста (табл. 1).

Таблица 1. Результаты определения способности аэробных бактерий поглощать ртуть

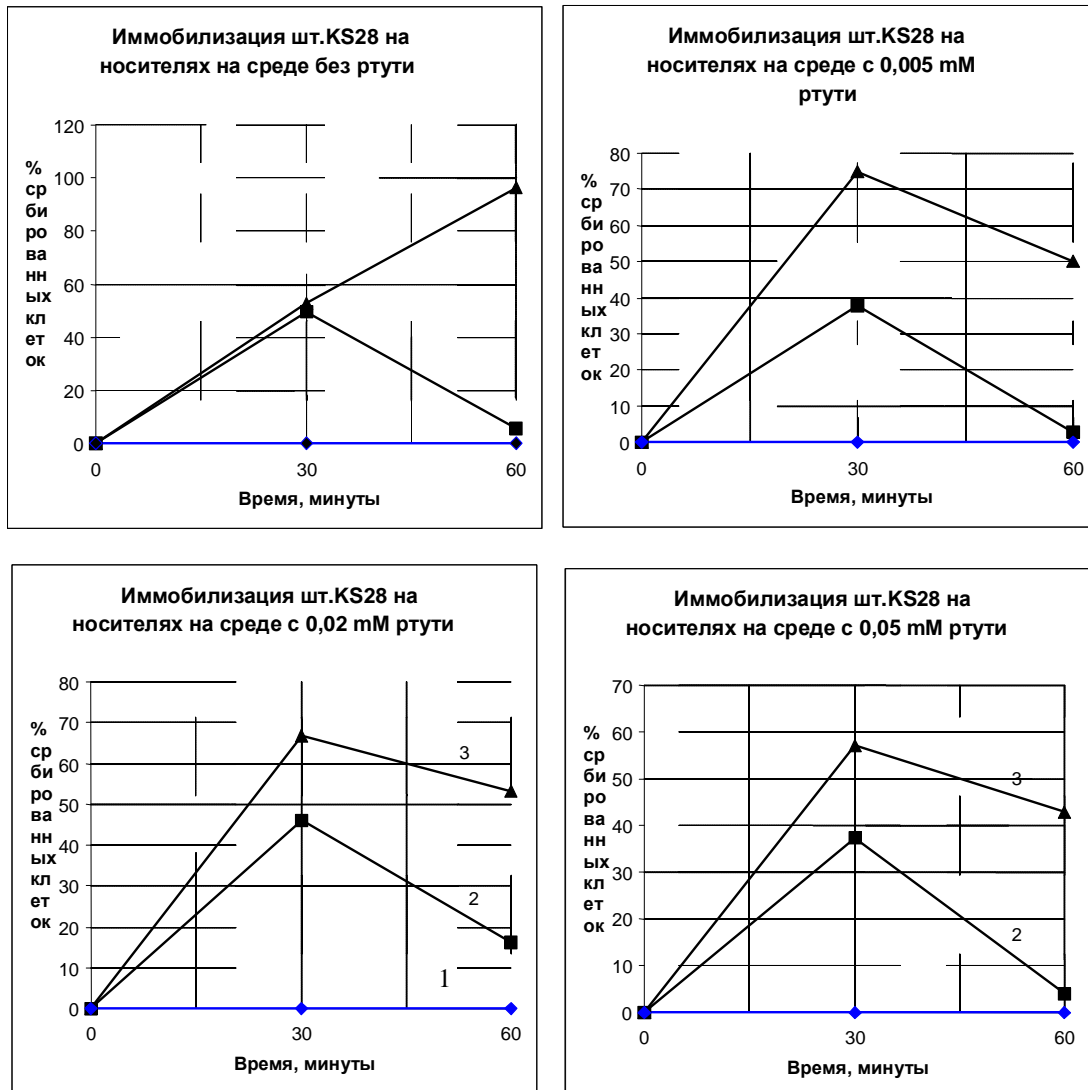
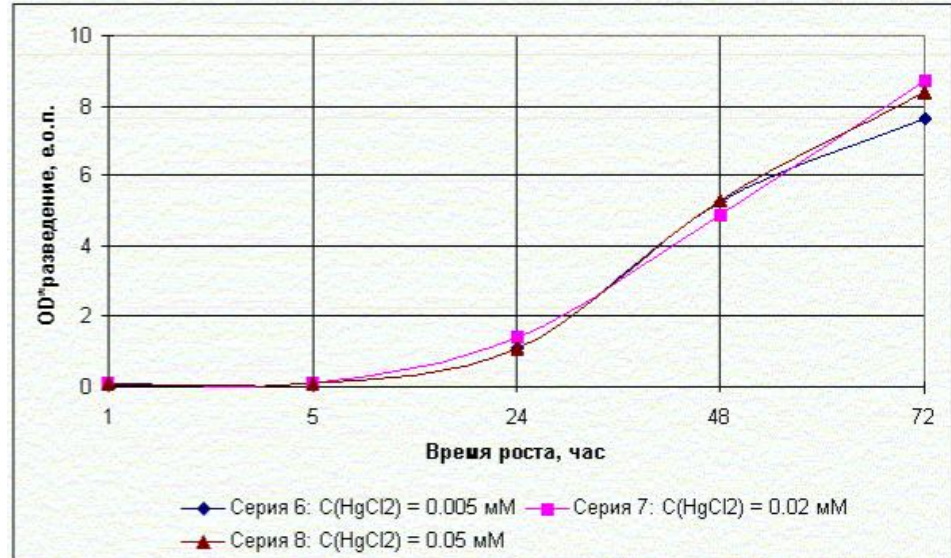
№ штамма бактерий	Повторность	Кол-во поглощенной ртути, мкг/г сырой биомассы		№ штамма бактерий	Повторность	Кол-во поглощенной ртути, мкг/г сырой биомассы	
		1 серия 0,05 мМ $HgCl_2$	2 серия 0,05 мМ $HgCl_2$			1 серия 0,05 мМ $HgCl_2$	2 серия 0,05 мМ $HgCl_2$
57	1	17,73	16,24	114	1	43,11	98,89
	2	15,20	11,60		2	55,50	88,89
46	1	31,62	22,80	19	1	126,17	50,93
	2	22,82	23,62		2	64,88	133,91
6	1	31,20	15,04	т.2/6	1	564,1	33,79
	2	17,02	22,70		2	475,41	38,63
т. 11/10	1	45,21	30,40	KS/28	1	614,96	29,48
	2	56,87	46,32		2	29,75	35,26
т. 11/12	1	26,99	23,04	т.2/7	1	29,53	27,92
	2	20,68	28,06		2	497,28	40,91
52	1	110,55	93,92	2	1	41,04	29,65
	2	121,53	*		2	24,25	45,88
т.11/13	1	30,02	88,33	41	1	20,6	48,4
	2	125,98	484,06		2	21,5	30,7
т.2/8	1	27,53	39,84				
	2	59,74	224,65				

Немаловажным при оценке возможности использовать бактерии для очистки грунтовых вод от ртути является подбор таких штаммов бактерий, которые устойчивы к низким температурам грунтовых вод. Поэтому аэробные бактерии, отобранные как перспективные для использования в целях биоремедиации, были изучены на предмет их отношения к температуре. Результаты показали, что все исследуемые бактерии хорошо растут при температурах +4 и +28 °С, но не способны расти при +35 °С (рис. 1). Это позволило считать, что отобранные бактерии подходят для использования их для очистки грунтовых вод от

ртути, так как в грунтовых водах преобладают низкие температуры.

Использование бактерий при разработке биотехнологии биоремедиации предполагает необходимость их закрепления на подходящем сорбенте, что повышает эффективность процесса. Изучение способности аэробных бактерий прикрепляться к керамзиту, активированному углю и синтетическому волокну, которые были выбраны в качестве потенциальных сорбентов, показало, что бактерии лучше всего сорбируются на керамзите и активированном угле (рис. 2).

**Рис. 1.** Изменение оптической плотности культуральной жидкости при росте бактерий *Pseudomonas sp.*, 52 на среде со ртутью при температуре +4°C



**Рис. 2.** Иммуобилизация аэробных бактерий *Pseudomonas sp.*, KS28 на испытуемых сорбентах (1 – синтетическое волокно, 2 – керамзит, 3 – активированный уголь)

Другим возможным путем микробной трансформации ртути является участие в этом процессе факультативно-анаэробных бактерий, устойчивых к ртути, которые при росте с тиосульфатом в анаэробных условиях образуют  $H_2S$ . Такие бактерии были выделены и идентифицированы как *Citrobacter freundii*, 8.

Данный процесс мог бы представлять интерес для биотехнологии, так как бактерии способны восстанавливать  $Na_2S_2O_3$  и в микроаэрофильных условиях, т. е. для продукции  $H_2S$  бактериям не обязательно создавать строго анаэробные условия.

Однако результаты работы показали, что количество образуемого бактериями *Citrobacter freundii*, 8 сероводорода не превышало 78,9 мг/л, что существенно меньше того количества, которое образуют сульфатредуцирующие бактерии, но его теоретически достаточно для осаждения присутствующей в среде ртути. В то же время результаты лабораторных экспериментов позволили обнаружить, что значительные количества ртути не осаждаются в таких условиях (табл. 2), а при росте бактерий в анаэробных условиях и продуцировании ими  $H_2S$  образуется значительное количество метиловой ртути (до 0,5 мкг/л), что в 10 раз превышает ПДК.

Полученные результаты свидетельствуют о нецелесообразности использования факультатив-

но-анаэробных бактерий *Citrobacter freundii*, 8 для биоремедиации грунтовых вод, так как применение таких бактерий может увеличить риск попадания метиловой ртути по пищевой цепи в организм человека.

Эксперименты с анаэробными сульфатредуцирующими бактериями (СРБ) позволили оценить эффективность бактерий при осаждении растворимой ртути

В начале работы с отобранными штаммами СРБ было решено проверить эффективность исследуемых бактерий для осаждения ртути путем определения содержания общей ртути в растворе при развитии СРБ и осаждении ртути в виде  $HgS$ . Предполагалось прежде всего выбрать такой штамм СРБ, при развитии которого ртуть общая в растворе или не обнаруживается, или обнаруживается в минимальном количестве. Обнаружение  $Hg_{общ.}$  в фильтрате в присутствии СРБ может косвенно свидетельствовать об образовании  $MeHg^+$  бактериями, так как в присутствии большого количества  $H_2S$  вся неорганическая ртуть выпадает в осадок в виде  $HgS$  и обнаруживаемая в растворе ртуть может быть только органической формой ртути –  $MeHg^+$ . Известно, что для осаждения 1 моля  $HgCl_2$  требуется 1 моль  $H_2S$ , а исследуемые бактерии продуцируют значительно большее количество  $H_2S$  и это говорит о том, что среда при росте СРБ насыщена  $H_2S$ .

Таблица 2. Содержание  $Hg_{общ.}$  в фильтрате при росте факультативно-анаэробных бактерий *Citrobacter freundii*, 8 в анаэробных условиях, мкг/л

Содержание $HgCl_2$ в среде, мМ	Повторность	Продолжительность выращивания бактерий, сут					
		3		7		10	
		серия		серия		серия	
		1	2	1	2	1	2
0	1	5,95		0,20	0,60	22,75	0,95
	2			0,60	15,35	4,55	0,45
	Среднее	5,95		0,400	7,97	13,65	0,7
0,005	1	333,50		34,25	54,00	33,70	41,15
	2			101,00	417,00	38,45	47,30
	Среднее	333,50		67,60	235,50	36,00	44,22
0,02	1	925,00		445,50	287,00	271,00	146,00
	2			481,00	278,00	228,00	707,00
	Среднее	925,00		463,25	282,50	249,50	426,50
0,05	1	5350,00		2730,00	1265	765,00	975,00
	2			590,00	3975,00	1065,00	930,00
	Среднее	5350,00		1660,00	2620,00	915,00	952,50

В то же время представлялось важным узнать о количестве предполагаемой  $\text{MeHg}^{\circ}$  в растворе.

Для экспериментов был взят штамм сульфат-редуцирующих бактерий №12, относящийся к роду *Desulfotomaculum*, который хорошо рос на среде с лактатом и ацетатом при всех исследованных концентрациях  $\text{HgCl}_2$  и образовывал значительное количество  $\text{H}_2\text{S}$ .

Наиболее высокие показатели по содержанию  $\text{Hg}_{\text{общ}}$  в растворе были обнаружены в вариантах при росте *Desulfotomaculum sp.*, 12 с лактатом. При росте бактерий с ацетатом в фильтрате содержание  $\text{Hg}_{\text{общ}}$  было значительно ниже и выражалось в нанограммах. Результаты показали, что исследуемые СРБ способны продуцировать  $\text{H}_2\text{S}$  в количестве, достаточном для осаждения ртути в виде  $\text{HgS}$ , а используя ацетат в качестве источника органического вещества, можно снизить до минимума вероятность образования  $\text{MeHg}^{\circ}$  сульфатредуцирующими бактериями.

Таким образом, в загрязненных ртутью илах и почвах пригорода Павлодара присутствуют устойчивые к ртути аэробные, факультативно-аэробные и СРБ, которые могут взаимодействовать с растворимыми формами ртути и преобразовывать ее в металлическую, сульфид-

ную или метилированную формы. Процессы аэробного поглощения ртути и осаждения ртути в виде сульфида с использованием СРБ можно использовать в целях биоремедиации грунтовых вод от ртути.

В то же время при возникновении оптимальных условий для развития факультативно-анаэробных бактерий *Citrobacter freundii* в грунтовых водах могут усиливаться опасные процессы метилирования ртути.

#### Резюме

Павлодар қаласы маңындағы сынаппен ластанған топырақ пен лайдан бөлініп алынған аэроб, факультативті-анаэроб және сульфатыдыратушы бактериялардың сынапты түрлену процестеріндегі ролі көрсетілген.

#### Summary

The role of aerobic, facultative-anaerobic and sulfate reducing bacteria isolated from mercury polluted soil and silt of pavlodar suburb in mercury transformation processes was shown.

УДК 576.8: 628

<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии МОН РК;

<sup>2</sup>United States Environmental Protection Agency, США

Поступила 17.10.06г.