

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Республика
Казахстан)

МИКРОБНАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

Аннотация. Проведен анализ литературных данных на предмет биологического окисления полициклических ароматических углеводородов углеводородоокисляющими микроорганизмами. Рассмотрены различные механизмы биоокисления углеводородов.

Ключевые слова: полициклические ароматические углеводороды, механизм окисления, углеводородоокисляющие микроорганизмы.

Тірек сөздер: полициклді хошіісті көмірсутектер, тотығу механизмі, көмірсутегі тотықтырғыш микро-организмдер.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, oxidation mechanism, hydrocarbon-oxidizing microorganisms.

Интенсивное развитие химической и обрабатывающей промышленности привело к интенсивному накоплению в природных биоценозах значительных количеств токсичных веществ, что, в свою очередь, обусловило развитие исследований в области охраны окружающей среды. Вместе с тем, в решении экологических проблем до последнего времени (5-7 лет назад) доминировало традиционное направление – мониторинг объектов окружающей среды и определение ПДК эко-токсикантов. Сегодня ведутся работы по использованию штаммов-деструкторов экотоксикантов в очистных сооружениях [1], но вопросы биodeградации токсичных веществ непосредственно в природных биоценозах (биоремедиации) и создания промышленных технологий, позволяющих очищать природные ландшафты от техногенных загрязнений разработаны недостаточно.

Среди веществ – экотоксикантов полиароматические соединения занимают одно из первых мест по урону, наносимому окружающей среде. Спектр этих веществ чрезвычайно разнообразен. Их утилизация сводится в основном к захоронению на специальных полигонах [2].

Все эти вещества имеют в своей структуре бензольное кольцо, которое содержится в природном полимере лигнине, являющимся, наряду с целлюлозой, одним из основных компонентов древесины. Показано [3], что почвенные микроорганизмы способны разрушать лигнин и размыкать входящее в его структуру бензольное кольцо. Вполне возможно, что некоторые из этих микроорганизмов, в процессе селекции могут

приобрести способность утилизировать ПАУ в качестве косубстратов или единственных источников углерода и энергии.

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) являются классом повсеместно распро-страненных устойчивых поллютантов, содержащихся в сточных водах и газовых выбросах коксо-, газо- и нефтехимических производств. Нафталин, фенантрен, антрацен, хризен являются компо-нентами тяжелых фракций нефти и попадают в окружающую среду в результате аварийных разли-вов нефтепродуктов, при сгорании различных видов топлива при неполном доступе кислорода, а также содержатся в выхлопных газах автомобилей. В последнее время серьезную проблему представляет загрязнение почв и водных систем в индустриально развитых районах мира, поскольку многие ПАУ относятся к классу канцерогенов и мутагенов [6].

Хотя некоторое уменьшение концентрации ПАУ в почве возможно за счет абиотических процессов, основную роль в деградации этих соединений играют микробные популяции. Уникаль-ная способность микроорганизмов к деградации ПАУ как природного, так и антропогенного происхождения становится предметом особого внимания исследователей, прежде всего с точки зрения использования микроорганизмов – деструкторов для очистки окружающей среды от все более возрастающего загрязнения антропогенного происхождения. Окисление углеводов большинством известных микроорганизмов осуществляется с помощью адаптивных энзимов (фер-ментов). Этот факт установлен многочисленными экспериментами по окислению углеводов клетками микроорганизмов, выращенных на неуглеводородных субстратах. Было показано, напри-мер, что клетки гептанокисляющих бактерий, выращенные на глюкозе, не могут окислять углеводороды в присутствии хлорамфеникола. Это соединение угнетает протеиновый синтез, что препятствует возникновению адаптивных энзимов. [5]

Известно, что ряд микроорганизмов способен использовать ПАУ как источники углерода и энергии или трансформировать их [7]. Накоплен значительный экспериментальный материал, показывающий, что процесс биodeградации ПАУ бактериями часто контролируются плазидами, большинство из которых обнаружено представителей рода *Pseudomonas* [8].

Псевдомонады способны к утилизации самых разнообразных органических соединений, в том числе неприродных. Однако данные, касающиеся биохимических путей, генетического контроля и физиологических аспектов утилизации ПАУ микроорганизмами в основном получены при изуче-нии процесса катаболизма нафталина и относительно мало известно о катаболизме и трансформа-ции ПАУ с более высоким молекулярным весом, таких как фенантрен, антрацен и др. Процесс деградации этих соединений в природных условиях протекает весьма медленно. Это обусловлено, в частности, низкой растворимостью ПАУ в воде, что резко снижает их биодоступность для микроорганизмов.

В последнее время возрос интерес к использованию штаммов – деструкторов для очистки от загрязнений окружающей среды *in situ*. Интродукция микроорганизмов в окружающую среду предполагает проведение предварительных лабораторных исследований штаммов-деструкторов. Исследователи все чаще используют модельные

системы, приближенные к естественным условиям, в том числе и почвенные микросистемы. При моделировании природных процессов в лабораторных условиях возникает необходимость разработки новых модельных систем, методов контроля над процессами жизнедеятельности микроорганизмов и деградации ПАУ, быстрых методов количественного определения ПАУ в почве и водных растворах. Изучение процесса деградации ПАУ различными штаммами микроорганизмов предполагает развитие и совершенствование подходов для оценки эффективности этого процесса с целью выбора наиболее активных штаммов-деструкторов для биоремедиации загрязненных территорий. Оценка эффективности процесса деградации предполагает определение количественных характеристик роста микроорганизмов и потребления субстратов с использованием математического моделирования.

Микроорганизмы обладают свойством избирательного отношения к различным углеводородам, причем эта способность определяется не только различием в структуре вещества, но даже и количеством углеродных атомов, входящих в структуру. Так, например, выделенные и описанные И. Таучевым и В. Петровым *Bacterium aliphaticum* и *Bacterium aliphaticum liquefaciens* н-гексан, н-октан, декан, гексадекан, триаконтан и тетратриаконтан, а выделенная ими же *Bacterium parafinicum* окисляла только высшие гомологи этого ряда, начиная с гексадекана [8, 9, 10, 11].

Известны несколько микроорганизмов, трансформирующих и утилизирующих фенантрен как единственный источник углерода и энергии: *Comamonas testosteroni* GZ38A, GZ39, GZ42, *Burkholderia sp.*, *Alcaligenes faecalis* AFK2, *Sphingomonas sp.* P2, *Mycobacterium sp.* PYR 1, *Pseudomonas putida* NCB19816, *Nocardiodes sp.* KP7. Сообщений о микроорганизмах, способных метаболизировать антрацен еще меньше: *Burkholderia sp.* RP007, *Rhodococcus sp.*, бактерии рода *Mycobacterium* [12].

В работе Н.А. Ленёвой [13], изучались пути трансформации фенантрена и антрацена бактериями рода *R. opacus* 412 и *R. Rhodnii* 135, для чего проводили адаптацию микроорганизмов путем многократного пересева. Были предложены пути превращения фенантрена исследуемыми родококками (*R. opacus* 412 и *R. Rhodnii* 135). Предполагается, что *R. opacus* 412 способен утилизировать фенантрен через начальное дигидроксилирование фенантрена с образованием 3,4-дигидродиола и затем 3,4-дигидроксифенантрена, с последующим образованием 7,8-бензокумарина, 1-гидрокси-2-нафтоальдегида и 1-гидрокси-2-нафтойной кислоты через салицилат и катехол до цикла трикарбоновых кислот.

Повышенное содержание 3-гидроксифенантрена, а также появление и накопление дигидроксилированного не в *ortho* – положении фенантрена в адаптированном варианте штамма *R. opacus* 412 могут говорить о возможно повышенной экспрессии ферментов, осуществляющих монооксигенирование, после предварительной адаптации. То, что такое соединение накапливается со временем, свидетельствует о неспособности штамма к дальнейшей утилизации. Таким образом, можно выделить новый, но тупиковый путь трансформации фенантрена штаммом.

Учитывая рост адаптированного варианта штамма *R. rhodnii* 135, а также присутствие в культуральной жидкости следовых количеств салицилальдегида, салицилата, катехола

и гидрокси-муконового полуальдегида, можно предположить существование пути а, через который осуществляется основная минерализация фенантрена адаптированными клетками. Однако, скорее всего, трансформация фенантрена через данный путь проходит с большими скоростями по сравнению со штаммом *R. oracus* 412. Предварительная адаптация *R. rhodnii* 135 к фенантрону приводит к повышенному накоплению метаболитов пути б, что может также свидетельствовать об активации ферментов катализирующих последовательное монооксигенирование фенантрена [13, 14].

Имеющиеся в литературе данные нельзя считать исчерпывающими, поскольку число потенциально возможных реакций деградации фенантрена и антрацена намного больше, чем известно в настоящее время, особенно с учетом дальнейшего метаболизма первичных продуктов окисления. В большинстве работ внимание сосредоточено на штаммах осуществляющих как можно глубокую деградацию субстрата, вплоть до полной минерализации. Причина этого заключается как в цели исследований (разработка методов биodeградации), так и в методах выделения штаммов (накопительные культуры). Вероятно, при таком подходе бактерии, осуществляющие неполную деструкцию субстрата, ускользают из поля зрения.

Применение микроорганизмов для очистки окружающей среды от токсичных, устойчивых к разложению поллютантов в настоящее время приобретает все большие масштабы. Бактерии рассматриваются как перспективные объекты для создания новых экотехнологий и являются предметом всесторонних исследований. Эффективность методов биоремедиации определяется как способностью используемых организмов к полной деградации целевых токсикантов или их разложения до менее токсичных интермедиатов (утилизируемых основной массой участников микробиоценозов), так и активностью создаваемых биопрепаратов (технологий) в широком диапазоне физико-химических условий.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Kirby Niamh, Mc. Mullan Geoffrey, Marohant Roger. Decolourisation of an artificial textile effluent by *Phanerochaete chrisosporium* // *Biotechnol. Lett.* – 1995. – 17, № 7. – С. 761-764.
- 2 Вредные вещества в промышленности / Под ред. Н. В. Лазарева. – М.: Химия, 1976, 1977. – Т. 1, 2, 3.
- 3 Бабицкая В.Г., Щерба В.В.. Деградация природных полимеров мицелиальными грибами- продуцентами биологически активных веществ // *Прикл. биохимия и микробиология.* –1991. – 27, № 5. – С. 687-694.
- 4 Головлева Л.А., Финкельштейн З.И., Баскунов Б.П. // *Микробиология.* – 1995. – Т. 64, № 2. – С. 197-200.
- 5 Успехи микробиологии / Под ред. А. А. Имшеницкого. – М., 1968. – Т. 5., – 165 с.
- 6 Banerjee D.K., Fedorak P.M., Hashimoto A.K., Pickard M.A. Monitoring the biological treatment of anthracene- contaminated soil in a rotating - drum bioreactor // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* – 1995. – 43. – С. 521-528.

7 Kiyohara H., Torigoe S., Kaida N., Asaki T., Iida T., Hayashi H., Takizawa N. Cloning and characterization of a chromosomal gene cluster, pah, that encodes the upper pathway for phenantrene and naphthalene utilization by *Pseudomonas putida* OUS82 // *J. Bacteriol.* – 1994. – Vol. 176. – P. 2439-2443.

8 Feist C.F., Hegeman G.D., fenol and benzoate metabolism by *Pseudomonas putida* of tangential pathways // *Journal of bacteriology.* – 1969. – Vol. 100. – P. 869-877.

9 Кодина Л.А., Геохимическая диагностика нефтяного загрязнения почвы// Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. – М.: Наука, 1988. – С. 112-122.

10 Cerniglia C.E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons // *Biodegradation.* – 1992. – Vol. 3. – P. 351-358.

11 Кошелева И.А., Балашова Н.В., Измалкова Т.Ю., Филонов А.Е., Соколов С.Л., Слепенькин А.В., Боронин А.М. Деградация фенантрена мутантными штаммами – деструкторами нафталина // *Микробиология.* – 2000. – № 6. – С. 783-789.

12 Churchil S.A., Harper J.P., Churchil P.F. Isolation and characterization of a *Mycobacterium* species capable of degrading three- and four-ring aromatic and aliphatic hydrocarbons // *Applied and Enviromental Microbiology.* –1999. – Vol. 65. – P. 549-552.

13 Ленёва Н.А., Коломыцева М.П., Баскунов Б.П., Головлёва Л.А. Деградация фенантрена и антрацена бактериями рода *Rhodococcus* // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 2009. – № 2. – С. 188-194.

14 Moody J.D., Freeman J.P., Doerg D.R., Cerniglia C.E. Degradation of phenantrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp. PYR-1 // *Applied and Enviromental Microbiology.* – 2001. – Vol. 67. – P. 1476-1483.

REFERENCES

1 Kirby Niamh, Mc. Mullan Geoffrey, Marohant Roger. *Biotechnol. Lett.* **1995**,17, №7. с. 761-764. (Engl.)

2 Pod red. N. V. Lazareva. *Vrednye veshstva v promyshlennosti*, М: Himia, **1976, 1977**. Т.1, 2, 3 (in Russ.).

3 Babickaya V.G., Scherba V.V. *Prikl. Biochimia i mikrobiologia.* **1991**. 27, №5, с. 687,694. (in Russ.).

4 Golovleva L.A., Finkel'shtein Z.I., Baskunov B.P. *Mikrobiologija*, tom 64, №2, **1995**, с.197-200. (in Russ.).

5 Pod red. A. A. Imshenickogo *Uspehi micobiologii.* М, **1968**, Т.5, 165 с. (in Russ.).

6 Banerjee D.K., Fedorak P.M., Hashimoto A.K., Pickard M.A. *Appl. Microbiol. And Biotechnol.* **1995**. 43, с. 521-528. (Engl.)

7 Kiyohara H., Torigoe S., Kaida N., Asaki T., Iida T., Hayashi H., Takizawa N. *J. Bacteriol.* **1994**. Vol. 176. P. 2439, 2443. (Engl.)

8 Feist C.F., Hegeman G.D., *Journal of bacteriology* **1969**, Vol.100, P. 869,877. (Engl.)

9 Kodina L.A. *Vosstanovlenie neftezagryaznennyh pochvennyh ecosystem.* М., Nauka, **1988**, С. 112, 122. (in Russ.).

10 Cerniglia C.E. *Biodegradation*, **1992**, Vol.3; P. 351,358.(Engl.)

11 Kosheleva I.A., Balashova N.V., Izmalkova T.U., Filonov A.E., Sokolov S.L., Slepkin A.V., Boronin A.M. *Microbiologia*, **2000**, № 6, С. 783, 789 (in Russ.).

12 Churchil S.A., Harper J.P., Churchil P.F. *Applied and Enviromental Microbiology.* **1999**. Vol. 65. P. 549, 552 (Engl.)

13 Leneva N.A., Kolomyceva M.P., Baskunov B.P., Golovleva L.A. *Prikladnaya biochimia I microbiologia*, **2009**, № 2. С. 188, 194 (in Russ.).

14. Moody J.D., Freeman J.P., Doerg D.R., Cerniglia C.E. *Applied and Enviromental Microbiology.* **2001**. Vol. 67. P. 14761483. (Engl.)

Резюме

А. В. Медведева

(ҚР БЖҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан Республикасы)

ПОЛИЦИКЛДІ ХОШИІСТІ КӨМІРСУТЕКТЕРДІҢ МИКРОБТЫ ДЕГРАДАЦИЯСЫ

Көмірсутегі тотықтырғыш микроорганизмдермен полициклді хошиісті көмірсутектердің биологиялық тотығуы жайлы әдеби мәліметтерге зерттеу жүргізілді. Көмірсутектердің биототығу механизмдерінің түрлері қарастырылған.

Тірек сөздер: полициклді хошиісті көмірсутектер, тотығу механизмі, көмірсутегі тотықтырғыш микро-организмдер.

Summary

A. V. Medvedeva

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Republic of Kazakhstan)

MICROBIAL DEGRADATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS

The analysis of literature data concerning biological oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons using hydrocarbon-oxidizing microorganisms. Reviewed the various mechanisms of biological oxidation hydrocarbons.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, oxidation mechanism, hydrocarbon-oxidizing microorganisms.

Поступила 15.08.2013 г