

УДК 579.844.013

СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКЕ ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ, СОДЕРЖАЩИХ НИТРОЦЕЛЛЮЛОЗУ

О.Е. Петрова, М.Н. Давыдова, Н.Б. Тарасова, Ф.К. Мухитова

(Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН;
e-mail: petrova@mail.knc.ru)

Бактерии рода *Desulfovibrio* могут эффективно участвовать в процессе деструкции нитроцеллюлозы (НЦ), приняв на себя функцию первичного звена в микробной цепочке преобразований на стадии денитрификации. При росте на среде с НЦ сульфат-редуцирующие бактерии осуществляют трансформацию НЦ в целлюлозу. В культуральной жидкости обнаруживаются ионы нитратов и аммония. Эффективность процесса зависит от условий его проведения и максимальна при наличии углеродного и азотного питания для бактерий. Бактерии содержат активную нитратредуктазу.

Многие новейшие процессы переработки отходов промышленности основаны на использовании каталитических способностей микроорганизмов. Нитроцеллюлоза (НЦ), входящая в состав отходов производств взрывоопасных веществ, лаков, пластмасс и др., с трудом поддается биоразрушению и длительное время присутствует в окружающей среде. Устойчивость НЦ для разложения целлюлолитическими микроорганизмами обусловлена введением в структуру целлюлозы NO₂-групп [1]. Предварительная химическая обработка отходов, связанная с удалением азота из молекулы целлюлозы, является энергоемким и неэкологичным процессом.

Представляется перспективным использование в этих целях специфических микроорганизмов методом введения в обычные системы переработки отходов специально подобранных культур.

В последнее время показана способность накопительных культур анаэробных микроорганизмов вести восстановление нитрогрупп НЦ до газообразного азота в метаногенных [2], нитрат- и сульфатвосстанавливающих условиях [3]. Биохимия процесса трансформации азотсодержащих соединений определяется наличием в клетке микроорганизмов активных нитрат- и нитритредуктаз [4].

В представленной работе приведены результаты исследования способности бактерий рода *Desulfovibrio* к трансформации не природного соединения – нитроэфира целлюлозы (НЦ).

Использованные в работе штаммы *Desulfovibrio sp.* (*D. desulfuricans* 1388, *D. desulfuricans* 1799, *D. vulgaris* 1760, *D. gigas* 1382) получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ, Пущино, Россия).

Трансформация нитроцеллюлозы (НЦ) различными видами бактерий рода *Desulfovibrio*

Штамм бактерии	Количество НЦ после обработки бактериями, г/л	Количество НЦ после обработки бактериями, %
<i>D. desulfuricans</i> 1388*	7,78	9,3
<i>D. desulfuricans</i> 1799*	7,97	7,0
<i>D. vulgaris</i> 1760*	7,78	9,4
<i>D. gigas</i> 1382*	8,16	4,9

* Исходное количество НЦ составляло 8,578 г/л.

Состав среды Постгейта Б, содержащей в качестве органического субстрата молочнокислый кальций (3,5 г/л), а в качестве восстановителя – 1% Na_2S в 1%-м NaHCO_3 , а также методы анаэробного культивирования сульфатредуцирующих бактерий описаны ранее [5, 6]. В опытных вариантах НЦ с высоким содержанием азота (11,8%) добавляли в питательную среду из расчета 12 г/л. В контрольном варианте бактерии выращивали на среде Постгейта Б без добавления НЦ. Содержание НЦ определяли весовым методом после экстракции ацетоном, ионы нитратов в культуральной среде – по методу, описанному Лурье [7]. Количество биомассы определяли по изменению количества клеточного белка [8].

В работе представлены средние значения трех независимых экспериментов, имевших по три повторности измерения каждой представленной величины.

Все изученные виды сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfovibrio* способны к трансформации НЦ (таблица). Концентрация НЦ снижалась от 5 до 9% за 14 дней, удельная скорость процесса составляла 46–73 мг НЦ на 1 мг белка. Для дальнейших экспериментов был использован штамм *Desulfovibrio desulfuricans* 1388.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что для биотрансформации НЦ бактериями *Desulfovibrio desulfuricans* 1388 необходимо наличие органического источника углерода – лактата. На среде Постгейта В без лактата не наблюдалось роста бактерий и концентрация НЦ не изменялась (данные не приведены). НЦ оказывает ингибирующее действие на рост *Desulfovibrio desulfuricans*, которое выражается в увеличении лаг-фазы и снижении удельной скорости роста с $0,074$ до $0,05 \text{ ч}^{-1}$ (рис. 1). Биомасса по белку в опытном варианте с НЦ сравнима с таковой в контроле без НЦ (160 и 130 мг/л соответственно).

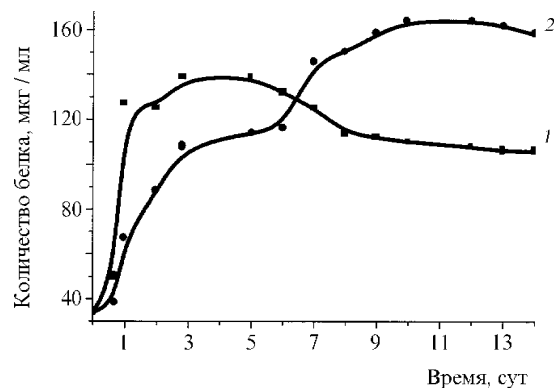


Рис. 1. Кривые роста *D. desulfuricans* в минеральной среде Постгейта Б (1) и в той же среде с добавлением НЦ (2)

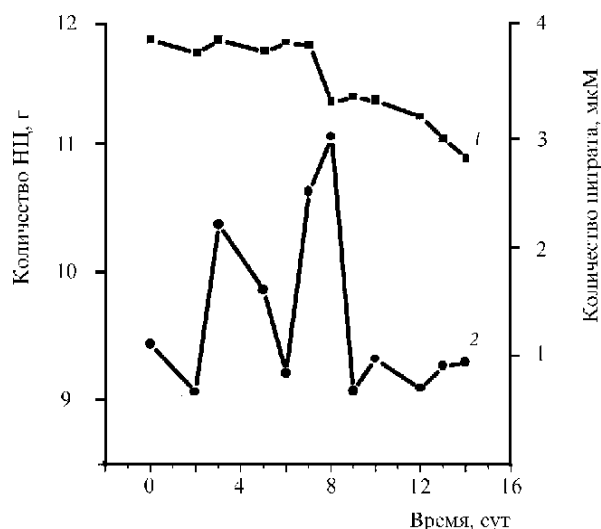


Рис. 2. Изменение количества НЦ (1) и динамика накопления нитратов (2) в культуральной жидкости при росте *D. desulfuricans* 1388 на среде Постгейта Б с добавлением НЦ

Заметное снижение концентрации НЦ в среде наблюдалось на восьмые сутки культивирования бактерий, через 14 дней ее убыль составляла 10%.

Процентное содержание азота в оставшейся нитроцеллюлозе снижалось на 13%. При трансформации НЦ клетками *D. desulfuricans* наблюдалось появление в культуральной среде ионов нитратов. Их количество достигало максимума (3 мМ) также на восьмые сутки, а затем резко снижалось (рис. 2). Нитратредуктазная активность экстрактов клеток составляла $0,11 \text{ мкМ/мин/мг}$ белка.

Таким образом, снижение концентрации НЦ свидетельствует о том, что *D. desulfuricans* обладает биохимическим потенциалом для ведения процесса трансформации нитроцеллюлозы. Использование для микробной денитрификации НЦ сульфатредуцирующих бактерий может оказаться перспективным для создания биотехнологии минерализации НЦ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. *White G.F., Snape J.R.* // J. Gen. Microbiol. 1993. **139**. P. 1947.
2. *Freedman D.L., Caenepeel B.M., Kim B.J.* // Wat. Sci. Tech. 1996. **34**. P. 327.
3. *Freedman D.L., Cashwell J.M., Kim B.J.* // Waste. Manag. 2002. **22**. P. 283.
4. *Moura I., Bursakov S., Costa C., Moura J.J.C.* // Anaerobe. 1997. **3**. P. 279.
5. *Postgate J.R.* // Labor. Pract. 1966. **15**. P. 1239.
6. *Золотухина Л.М., Давыдова М.Н., Красильникова Е.Н.* // Биохимия. 1999. **64**. С. 1132.
7. *Лурье Ю.Ю.* Аналитическая химия промышленных сточных вод. М., 1984. С. 167.
8. *Горина М.А., Яковлева В.И.* // Прикл. биохим. микробиол. 1980. **16**. С. 936.
9. Краткая химическая энциклопедия. М., 1964. С. 551.

Поступила в редакцию 25.10.02