

М. Н. ПОГЛАЗОВА, А. Я. ХЕСИНА, Г. Е. ФЕДОСЕЕВА,  
член-корреспондент АН СССР М. Н. МЕЙСЕЛЬ, академик АМН СССР Л. М. ШАБАД

**О РАЗРУШЕНИИ МИКРООРГАНИЗМАМИ БЕНЗ(а)ПИРЕНА  
В СТОЧНЫХ ВОДАХ**

Было показано, что многие микроорганизмы способны окислять полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), в частности бенз(а)пирен (БП), обладающий сильным канцерогенным действием и широко распространенный в окружающей человека среде (<sup>1-7</sup>). Разрушение БП бактериями было установлено как на лабораторных средах, так и в почве. Выявлено, что собственная микрофлора почвы способна разрушать до 50% БП, загрязняющего ее (<sup>6, 7</sup>). Отдельные культуры и штаммы бактерий разрушали в предварительно стерилизованной почве до 80% находящегося в ней БП. Однако, если некоторые активные культуры бактерий высевать на нестерильную почву, то усиления процессов разрушения БП не происходит (<sup>4</sup>). Микроскопическое исследование показало, что при этом не наблюдается преимущественного развития внесенных микроорганизмов.

Проведенные нами исследования судьбы ПАУ в почве и ряд работ различных авторов по изучению разрушения ароматических углеводородов микрофлорой водоемов (см. обзор (<sup>8</sup>)) послужили основанием для проведения опытов со сточными водами, загрязненными ПАУ, в частности — БП.

Перед нами стояли следующие вопросы:

- 1) Способна ли собственная микрофлора воды разрушать ПАУ, загрязняющие в различной степени воду?
- 2) Могут ли отдельные штаммы почвенных бактерий, активно разрушающих БП в загрязненной ПАУ почве, разрушать БП в сточной воде?
- 3) Возможно ли усилить разрушение БП и других ароматических углеводородов в сточных водах путем внесения в них культур, активных в отношении метаболизма ПАУ?

Таблица 1

Разрушение БП микроорганизмами в сточных водах ТЭЦ

Условия опыта	Название культуры	Опыт № 1			Опыт № 2		
		содержание БП мг/л	вариация, мг/л	количество БП, разрушенного микроорганизмами, %	содержание БП мг/л	вариация мг/л	количество БП, разрушенного микроорганизмами, %
Нестерильная вода	Контроль	0,37	±0,01	—	0,27	±0,01	—
	Собственная микрофлора воды	0,24	±0,02	35	0,16	±0,01	40
	Собственная микрофлора + Pseudomonas-146	0,12	±0,02	67	0,12	±0,01	55
	Собственная микрофлора + культура № 3	0,10	±0,01	73	0,11	±0,01	60
Стерильная вода	Контроль	0,18	±0,02	—	0,15	±0,01	—
	Pseudomonas-146	0,16	±0,01	11	0,13	±0,02	13
	Культура № 3	0,16	±0,01	11	0,14	±0,02	11

Таблица 2

## Разрушение БП микроорганизмами в сточных водах коксогазового завода

Условия опыта	Название культуры	Опыт № 3			Опыт № 4		
		содержание БП мг/л	вариация, мг/л	разрушение БП, %	содержание БП мг/л	вариация мг/л	разрушение БП, %
Нестерильная вода	Контроль	30,5	±2	—	30	±4	—
	Собственная микрофлора воды	26	±1	15	18	±4	40
	Собственная микрофлора + <i>Pseudomonas-146</i>	27,5	±0,5	10	15	±3	50
	Собственная микрофлора + культура № 3	26	±1	15	20	±1	40
	Собственная микрофлора + <i>Az. chroococcum</i>	—	—	—	18	±3	40
Стерильная вода	Контроль	25	±1	—	23	±3	—
	<i>Pseudomonas-146</i>	23	±0,5	8	17	±4	26
	Культура № 3	23	±1	8	19	±2	17
	<i>Az. chroococcum</i>	—	—	—	21	±1	9

Для исследования были взяты сточные воды коксогазового завода и одной из ТЭЦ, сильно загрязненные ПАУ. Бензольная экстракция образцов этих вод и последующий спектрально-флуоресцентный анализ позволили установить, что загрязнение различных проб этой воды БП составляет 30 мг/л для коксогазового завода и 0,3—0,4 мг/л для ТЭЦ.

Были поставлены два опыта с водой, содержащей 0,3—0,4 мг/л БП (опыты №№ 1 и 2, табл. 1), и два опыта с водой, содержащей 30 мг/л БП (опыты №№ 3 и 4, табл. 2).

Во всех случаях к воде добавляли мясопептонный бульон для более активного роста микроорганизмов. В первых трех опытах в каждую колбу для культивирования вносили 200 мл сточной воды и 50 мл бульона, в опыте № 4 в каждую колбу было внесено 100 мл воды и 100 мл бульона.

Культивирование бактерий проводили как на нестерильной, так и на предварительно простерилизованной воде.

Разрушение БП в нестерильной воде определяли после развития естественной микрофлоры, а также при добавлении к собственной микрофлоре воды чистых культур бактерий (*Pseudomonas-146*, почвенной культуры № 3 и *Azotobacter chroococcum*). Для сравнения параллельно были поставлены опыты со стерильной водой, в которой БП окисляли чистые культуры указанных бактерий. В качестве контроля были взяты количества БП, определенные нами в сточной воде непосредственно после взятия проб с коксогазового завода и ТЭЦ. В экспериментах со стерильной водой контролем служило содержание БП в воде после автоклавирования. Количество разрушенного БП определяли по разнице между его исходным содержанием и воде и после 5-суточного культивирования в термостатированном помещении при 28° на качалках.

По истечении срока культивирования в каждую колбу добавляли 40 мл перегнанного бензола; БП экстрагировали из бактериальной суспензии на качалке в течение 1 суток. Модельные опыты показали, что ПАУ, в частности БП, полностью переходят из водной среды, в которой они нерастворимы, в бензол, являющийся для них хорошим растворителем. Бензольный экстракт отделяли от водной среды в делительной воронке, а затем по квазилинейчатым спектрам флуоресценции<sup>(9)</sup> подвергали спектрально-флуоресцентному исследованию. При низком содержании БП (опыты

№№ 1 и 2) в экстрактах количественный анализ производили методом добавок с предварительной установкой по фону (<sup>10</sup>). Спектр регистрировали фотоэлектрически с последующей записью на самописце на спектрометре ДФС-12 (<sup>10</sup>). Использовали добавки  $1 \cdot 10^{-9}$  и  $5 \cdot 10^{-10}$  г. По графику определяли концентрацию БП в экстракте и вычисляли концентрацию БП в 1 л воды.

В опытах №№ 3 и 4 концентрация БП в экстракте была на два порядка выше, чем в предыдущих опытах. Фон, создаваемый люминесценцией примесей, был небольшим и поэтому количественные определения БП в этих опытах проводили комбинированным методом добавок и внутреннего стандарта по методике, разработанной ранее (<sup>11</sup>).

Результаты исследований по разрушению БП в сточной воде представлены в табл. 1 и 2. Табл. 1 содержит данные опытов с водой, относительно мало загрязненной ПАУ. В табл. 2 приведены результаты опытов с водой, содержащей ПАУ в очень высоких для обычных сточных вод концентрациях.

При сравнении результатов опытов наряду с некоторыми различиями можно выявить ряд общих закономерностей. Во всех опытах собственная микрофлора в условиях нестерильной сточной воды проявила способность разрушать довольно большие количества БП. Относительное количество углеводов, разрушенного бактериями, составляет в среднем 35—40%. Исключением является опыт № 3, в котором разрушение БП было сравнительно небольшим (10—15%), однако достоверным (доверительные уровни различия с контролем, вычисленные по критерию Стьюдента, были 99 и 95%). Абсолютные количества БП, разрушенного собственной микрофлорой воды с высоким содержанием ПАУ, в десятки раз больше, чем в слабозагрязненной воде. Даже 10% БП в опытах №№ 3 и 4 составляют 3 мкг на каждый литр воды, в то время как 50% в опытах №№ 1 и 2 составляют всего 0,15—0,20 мкг БП на 1 л воды. В этом отношении можно провести параллель с опытами, представленными в наших предыдущих исследованиях (<sup>2-7</sup>), которые показали прямую зависимость между степенью загрязнения почвы углеводородами и способностью микрофлоры разрушать БП.

Добавление активных культур к микрофлоре воды, слабо загрязненной ПАУ, привело к некоторому увеличению разрушения БП бактериями. В опытах №№ 3 и 4, в которых собственная микрофлора проявила способность разрушать значительные количества БП, добавление отдельных культур практически не вызвало увеличения разрушения углеводов.

По-видимому, существует принципиальная возможность усилить процессы разрушения ПАУ внесением активных культур бактерий в сточные воды.

При стерилизации воды автоклавированием существенно уменьшается исходное содержание в ней БП и, по-видимому, изменяются условия жизнедеятельности бактерий. В результате метаболическая активность бактерий *Pseudomonas-146* и культуры № 3 на стерилизованной воде с добавлением мясопептонного бульона составляла 10—20%, т. е. была того же порядка, что и на лабораторных средах.

В проведенных исследованиях мы изучали возможность разрушения лишь одного из ПАУ — бенз(а)пирена. Однако специальное хроматографическое и спектрально-флуоресцентное исследование сточной воды, взятой для микробиологического опыта, показало, что наряду с БП вода загрязнена и другими ПАУ, в частности бенз(а)антраценом, пиреном, безпериленом, в тех же количествах, что и бенз(а)пиреном. Ранее нами было показано, что микроорганизмы способны метаболизировать различные ПАУ примерно с одинаковой степенью активности (<sup>5</sup>). Таким образом, можно проводить исследования с одним из представителей ПАУ и распространять (с большой вероятностью) полученные результаты на весь ряд соединений.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что микрофлора сточных вод, загрязненных ПАУ, способна разрушать большие количества этих углеводов. Следовательно, в природе в сточных водах постоянно идут процессы разрушения ароматических соединений. Разрушение ПАУ микрофлорой сточных вод, по-видимому, можно усилить, добывая культуры микроорганизмов, активно окисляющие ПАУ.

Институт микробиологии  
Академии наук СССР

Поступило  
29 XII 1971

Институт экспериментальной  
и клинической онкологии  
Академии медицинских наук СССР

Институт молекулярной биологии  
Академии наук СССР  
Москва

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> М. Н. Поглазова, Г. Е. Федосеева и др., ДАН, 169, № 5, 1174 (1966).  
<sup>2</sup> М. Н. Поглазова, Г. Е. Федосеева и др., ДАН, 176, № 5, 1165 (1967). <sup>3</sup> M. N. Poglasova, G. E. Fedoseeva et al., Life Sciences, 6, 1053 (1967). <sup>4</sup> М. Н. Поглазова, Г. Е. Федосеева и др., ДАН, 179, № 6, 1460 (1968). <sup>5</sup> Г. Е. Федосеева, А. Я. Хесина и др., ДАН, 183, № 1, 208 (1968). <sup>6</sup> А. Я. Хесина, Н. П. Щербак и др., Бюлл. экп. биол. и мед., 10, 70 (1969). <sup>7</sup> М. Н. Поглазова, Г. Е. Федосеева и др., ДАН, 198, № 5, 211 (1971). <sup>8</sup> Claude E. Zobell. Proc. of Joint Conference on Prevention and Control of Oil Spills, Washington, June 15—17, 1971. <sup>9</sup> Э. В. Шпольский, А. А. Ильина, Л. А. Климова, ДАН, 87, 935 (1952). <sup>10</sup> А. Я. Хесина, Докл. на XIII совещании по люминесценции, Тез., М., 1964, стр. 113. <sup>11</sup> Г. Е. Федосеева, А. Я. Хесина, Журн. прикл. спектроскоп., 9, в. 2, 282 (1968).