

Хоменко Л.А., Ногина Т.М.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,
ул. Акад. Заболотного, 154, Киев 03143, Украина*

МИКРОБНАЯ ДЕСТРУКЦИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ (НЕФТЯНЫХ) МАСЕЛ

В обзоре представлены данные о составе минеральных моторных масел, их негативном влиянии на окружающую среду и способности микроорганизмов, в частности актинобактерий, к усвоению углеводородных компонентов масел. Описана роль бактерий в процессах очистки загрязненных моторными маслами сред и перспективы их использования в биотехнологиях очистки окружающей среды от этих поллютантов.

К л ю ч е в ы е с л о в а: актинобактерии, углеводороды, моторные масла, биодеструкция.

Проблеме защиты окружающей среды от воздействия автотранспорта, уделяется с каждым годом все больше внимания. Она связана не только с выбросом продуктов сгорания углеводородных топлив, но с накоплением в почве и водных объектах отходов смазочных материалов, в первую очередь нефтяных масел, которые относятся к одним из наиболее трудноразлагаемых продуктов переработки нефти. В природных условиях эти масла только частично разлагаются в результате физико-химических и биологических процессов, а основная их часть может оставаться источником устойчивого загрязнения окружающей среды [7, 23]. Эти вещества попадают в природную среду, в основном, в результате повреждения транспортных средств, аварий и несанкционированных сливов отработанных материалов владельцами автомобилей или предприятиями по их эксплуатации. По литературным данным, из общего количества выбросов транспортными средствами приблизительно 25,0 % остается на проезжей части, остальные нефтепродукты распределяются на поверхности прилегающей территории, включая обочину дорог, после чего с дождевыми или сливными водами (от 25,0 % до 50,0 %) попадают в подземные воды и непосредственно в открытые водоемы [15, 23].

Следует отметить, что среди смазочных материалов первое место по объемам производства и использования занимают моторные масла (ММ). Необходимое количество ММ для автомобилей на 100 л горючего составляет 0,6 – 2,2 л, что в 6 – 13 раз больше, чем, например, трансмиссионных масел [7]. Известно, что мировое производство смазочных масел к настоящему времени составляет около 40 млн. тон в год (т/год), а потенциальные возможности их национального производства в Украине по объему близки к 400 тыс. т/год [21, 22]. При уровне потребления смазочных масел более 1 млн. т/год в Украине официально собирается до 500 тыс. т/год отработанных нефтепродуктов, из которых 90 % сбрасывается в окружающую среду или используется неквалифицированно [20]. Приведенные данные свидетельствуют об актуальности проблемы контроля токсичности

смазочных масел, создания безотходных технологий их регенерации и усовершенствования методов очистки загрязненных ими объектов окружающей среды [2, 15, 20, 21].

Современные ММ, в зависимости от сырья для их изготовления, разделяют на три типа: минеральные, синтетические и полусинтетические. Основой всех типов ММ является, так называемое «базовое масло», которое составляет от 65 % до 85 % моторного масла. Базовое масло для минеральных ММ, которое получают при прямой перегонке мазута, представляет собой сложную смесь углеводородов с молекулярной массой 300 – 750 и гетероорганических соединений, содержащих кислород, серу, азот и некоторые металлы [2, 7]. Качество базового масла зависит от типа нефти, из которой оно получено, способа его получения и степени очистки. Синтетические ММ содержат базовые масла, которые изготавливают путем целенаправленного синтеза углеводородов – полиолефинов, алкилированных ароматических соединений, производных углеводородов и других веществ. Основа полусинтетических ММ состоит из смеси минерального и синтетического базовых масел в соотношении от 3:1 до 1:1. Из указанных типов ММ в настоящее время 75 % по объему использования составляют минеральные моторные масла [2].

Для изготовления товарных ММ к ним отдельно или, в так называемых «пакетах», добавляют индивидуальные функциональные присадки, которые являются концентрированными растворами активных веществ в базовом масле, и предназначены для повышения эксплуатационных характеристик масел. К основным типам присадок, содержание которых в ММ может достигать 25 %, относятся моющие, диспергирующие, вязкостные, депрессорные, противоизносные, антикоррозионные и антифрикционные. Указанные присадки отличаются по основным действующим компонентам, которые представлены такими соединениями как сульфонаты, алкилсалицилаты и дитиофосфаты металлов, производные фенола и бензотриазола. Данные о химическом составе разных торговых марок масел, пакетов присадок и индивидуальных функциональных присадок являются коммерческой тайной производителей этих веществ [7].

Следует отметить, что из-за своей токсичности и канцерогенности (смазочных материалов и продуктов их сгорания или разложения) и низкого уровня биодеструкции в природных условиях ММ представляют значительную экологическую опасность. Наиболее сильными канцерогенами в нефтяных маслах являются арены, предельно допустимая концентрация (ПДК) которых составляет 0,01 – 100 мг/м³, а также олефины (ПДК = 1 – 10 мг/м³), соединения серы (ПДК = 0,8 – 50 мг/м³) и азота (ПДК = 0,01 – 2 мг/м³) [16]. Показано, что токсичность нефтяных масел повышается с ростом молекулярной массы их углеводородных компонентов и кислотного числа, увеличением в их составе количества аренов, смолистых веществ и соединений серы.

Несмотря на то, что смазочные материалы, в частности, ММ используются больше чем 100 лет, только в последнее время проблема негативного влияния этих веществ на окружающую среду начала привлекать к себе значительное внимание экологов. Благодаря их усилиям при производстве современных смазочных материалов обязательному контролю подлежат не только их технические, но и экологические характеристики [2]. Так, в странах Евросоюза с 1993 года, а с 2003 года и в Украине, действуют государственные стандарты, в которых вместе с регламентированием основных физико-химических показателей товарных ММ (вязкость, антикоррозионные свойства, антиокислительная стабильность и т.д.),

предусмотрено нормирование способности этих веществ к биоразложению под действием природных штаммов микроорганизмов [1, 31].

Известно, что для очистки окружающей среды от ММ, также как и от других углеводородсодержащих веществ, используются механические, физико-химические, химические и биологические методы. Из них биологические методы, основанные на использовании микроорганизмов-деструкторов, которые усваивают углеводороды минеральных масел в качестве единственного источника углерода и энергии, признаны наиболее экологически чистыми и эффективными [14, 36, 37, 42].

Данные литературы о способности микроорганизмов к деструкции моторных масел немногочисленны. В начале 70 годов Horowitz A. с соавт. [34] при исследовании роста бактерий на ММ установили, что уровень его деструкции составил от 40 % до 65,8 %. При очистке почвы, загрязненной отработанными ММ, смешанной культурой микроорганизмов установлено, что скорость деструкции этих веществ увеличивается при внесении дополнительного источника азота при соотношении к углероду – 1:105 [27]. Необходимо отметить, что в первых работах по исследованию способности микроорганизмов усваивать ММ основное внимание уделялось загрязнению водной среды, и как деструкторы нефтепродуктов исследовались природные сообщества водных микроорганизмов без определения их родовой и видовой принадлежности.

Наиболее изучена способность микроорганизмов к деструкции технических минеральных масел, которые используются для защиты металлических изделий от коррозии и в процессе эксплуатации могут контаминироваться различными группами микроорганизмов. Как основные деструкторы этих веществ, а также их водно-масляных эмульсий, исследовались бактерии, среди которых изучались преимущественно представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium* и *Flavobacterium* [17, 27, 36, 37, 40, 49]. При изучении условий био-деструкции разных марок промышленных (И-20, И-45, И-8А, ИГП-38), трансмиссионного (ТАД-17), авиационного (ТС-20) и турбинного (Т22) минеральных масел ассоциациями бактериальных культур, иммобилизованными на волокнистых носителях, установлено, что активность деструкции этих веществ, в среднем составляла 92 % и зависела от марки масла, его концентрации и условий аэрации [13].

Следует отметить, что в последние годы все больше внимания уделяется исследованию и разработке методов очистки окружающей среды от отработанных ММ и других смазочных материалов, которые являются более токсичными, чем свежие (которые не использовались) масла [18, 24-27, 37, 40]. Отработанные ММ могут содержать до 25 % токсических веществ (присадок, тяжелых металлов, растворителей, кислот, около 140 видов канцерогенных полициклических углеводородов и других соединений), которые отрицательно влияют на все объекты окружающей среды – атмосферу, почву и воду [20]. Согласно расчетам экспертов, попадание в водоемы (или водоносные слои) одного литра отработанного масла вызывает отравление около 1 млн. л воды, в результате чего загрязнение имеет широкий ареал и носит долговременный характер [21]. Установлено, что отработанные ММ в природных условиях проявляют ингибирующее действие на микробный ценоз луговой почвы, в котором наблюдается резкое снижение общего количества почвенных бактерий, и стимулируется развитие углеводородокисляющих микроорганизмов [45]. При этом процесс деструкции ММ при значительном уровне загрязнения (13,0 %), протекает достаточно медленно и за год может составлять лишь 30 % [43].

Многими авторами показано, что для биодеструкции таких многокомпонентных веществ, как нефть, ММ и других гетерогенных углеводородсодержащих соединений, необходимо использовать смешанные культуры, которые обладают более широкими метаболическими возможностями, необходимыми для увеличения уровня деструкции различных классов углеводородов, по сравнению с монокультурами [25, 27, 31, 36]. Так, Bagherzadeh-Namazi A. с соавт. [27] установили, что композиция штаммов *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp., *Mycobacterium* sp. более эффективно, чем отдельные культуры, очищала загрязненную отработанными ММ почву: степень деструкции ММ смешанной культурой на 60 сутки составила 70 %, а у монокультур этот показатель достиг значений 14 – 23 %. Деструкция углеводородов нефти консорциумом бактерий *Rhizobiales* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Rhodococcus* sp., *Microbacterium* sp. и *Roseomonas* sp. через семь дней, при ее первоначальном количестве в среде 1 %, составила 52,1 %, при этом степень деструкции алифатических углеводородов была равна 71,4 %, а ароматических – 36 % [53].

Способность природных почвенных ассоциаций микроорганизмов к усвоению свежих ММ установлена Newman A.P. с соавт. [42]. Показано, что важную роль в биодеструкции ММ в естественных условиях играют почвенные микробные консорциумы, в состав которых входят представители актинобактерий (виды *Brevibacterium*) и споровых бактерий (представители рода *Bacillus*) [32]. Thenmozhi R. с соавт. [49] установили, что из 25 изученных ими изолятов, только три штамма (*Serratia marcescens* PDKT-1, *Pseudomonas aeruginosa* PDKT-2, *Bacillus licheniformis* PDKT-5) обладали высокой деструктивной активностью по отношению к отработанным маслам. Степень деструкции масла, через 30 дней, у штамма *P. aeruginosa* PDKT-2 достигала значений 81 %, а у штаммов *S. marcescens* PDKT-1, *B. licheniformis* PDKT-5 эти показатели были ниже и составляли через 60 дней 72 % и 60 % соответственно. Консорциум этих штаммов проявлял большую углеводородокисляющую активность по отношению к алифатическим компонентам ММ, деструкция которых через 30 дней достигла 90 %.

По данным Макаровой М.Ю. [11] в загрязненной углеводородами почве происходит значительное увеличение количества углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) и угнетение роста большинства аборигенных видов. Высокая численность УОМ сохраняется в течение трех-пяти лет после загрязнения нефтепродуктами, что совпадает с периодом очистки почвы от нефти микроорганизмами с высокой углеводородокисляющей активностью. Показано, что после внесения УОМ в почву, загрязненную использованным ММ, их количество в первые сутки увеличивалось до $7,0 \times 10^7$ КОЕ/г, а через 60 суток – до 10^8 КОЕ/г [27]. Peressutti S.R. с соавт. [45] при исследовании бактериоценозов нефтезагрязненных почв показали, что численность УОМ в них увеличивалась с 10^4 до 10^8 КОЕ/г через две недели, достигая максимального количества через 4 месяца (10^{11} КОЕ/г), при этом общее число аэробных микроорганизмов на этот период не достигало значения 10^7 КОЕ/г; через 7 месяцев наблюдалось значительное уменьшение количества УОМ – до 10^6 КОЕ/г. Следует отметить, что на разных этапах очистки почвы от углеводородов авторы обнаруживали присутствие разных видов. Так, установлено, что в незагрязненной почве встречаются виды: *Pseudomonas fluorescens*, *Xanthomonas maltophilia*, *Ochrobactrum anthropi*, *Bacillus brevis*. При внесении углеводородов нефти в почву в первой фазе (1 – 5 месяцев) выявлены в основном грамотрицательные бактерии, наличие которых обнаруживалось лишь несколько месяцев. К ним относятся *Alcaligenes xylosoxidans*,

Aeromonas caviae и *Pseudomonas vesicularis*. В отличие от этого, представители актинобактерий, принадлежащие к виду *Rhodococcus erythropolis*, преобладали как в первой (1–5 месяцев), так и во второй (6–13 месяцев) фазе очистки [45].

В последнее десятилетие, в связи с постоянно возрастающим накоплением отработанных ММ, начали появляться работы по исследованию влияния этих веществ на окружающую среду, здоровье человека и поиску активных штаммов-деструкторов ММ. Большинство этих работ посвящено изучению способности консорциумов микроорганизмов к биодegradации свежих или отработанных масел [27, 49].

Установлено, что важную роль в природных процессах деструкции различных классов углеводородов играют актинобактерии, среди которых наиболее часто обнаруживаются представители родов *Rhodococcus*, *Nocardia* и *Gordonia*, а реже – виды *Dietzia*, *Tsukamurella*, *Mycobacterium* [5, 6, 9, 10, 33]. Преимущество указанных бактерий в хронически загрязненных нефтью экосистемах объясняется метаболическими особенностями этих микроорганизмов и их устойчивостью к неблагоприятным условиям существования. Наличие у них высоколипофильной клеточной стенки, основным липидным компонентом которой являются миколовые кислоты, способствует поглощению углеводородов клетками пассивно-диффузным путем и активному их окислению при значительном загрязнении среды [9, 28]. Они высоко адаптированы к использованию предельно восстановленных нерастворимых субстратов, в первую очередь *n*-алканов C_5 – C_{22} , а также ароматических углеводородов, устойчивы к голоданию, широкому диапазону кислотности, минерализации среды и низких температур [3-6, 9, 10, 19, 28]. Большинство актинобактерий способны к усвоению *n*-алканов с длиной цепи больше, чем C_9 , так как короткоцепочечные, кроме метана, тяжелее поддаются окислению и являются более токсичными. Деструкция этими микроорганизмами *n*-алканов с длиной углеродной цепи от C_{30} до C_{40} может происходить от одного до нескольких месяцев, а больше чем C_{40} – на протяжении нескольких лет [5]. Установлено, что по степени доступности для актинобактерий углеводородов нефти их можно расположить в следующей последовательности: *n*-алканы > разветвленные *n*-алканы > низкомолекулярные ароматические *n*-алканы > циклические алканы > полициклические ароматические соединения > асфальтены [45, 48, 52].

Показано, что при окислении углеводородов (в частности *n*-гексадекана) штаммами *Rhodococcus erythropolis* и *Dietzia maris* в культуральной жидкости накапливаются продукты его распада: этанол, изопропанол и ацетат и это явление имеет синусоидный характер. Низкие концентрации этих продуктов в среде можно объяснить их утилизацией в процессе роста непосредственно самими деструкторами и другими сапрофитными микроорганизмами, которые формируют микробиоценозы природных экосистем [12].

Лишь в последние десятилетия начали появляться первые сообщения о способности отдельных видов актинобактерий к деструкции ММ [36, 38, 43]. Так, штаммы *Mycobacterium* sp., которые усваивают углеводородные компоненты моторного масла Proton Avant Petrol (Slovenia), были обнаружены Plohl K. and Leskovšek H. [43] среди природных изолятов бактерий – деструкторов моторных масел в водной среде. Данные литературы свидетельствуют о том, что минеральные ММ для микроорганизмов являются наиболее труднодоступным субстратом среди смазочных материалов. По данным Худоковрова А.А. [19] степень деструкции минеральных ММ марок М8 и М10 штаммами *Nocardia* sp. J2 и *Rhodococcus erythropolis* F1 составляла 39,0 – 59,0 %. При деструкции нефтепро-

дуктов, с преобладающим содержанием легких фракций (нефть, дизельное горючее и керосин), наблюдалась большая (76,0 – 97,0 %) углеводородокисляющая активность исследованных штаммов *Dietzia*, *Gordonia* и *Rhodococcus*. Показано, что более высокая деструктивная активность (80,0 – 93,0 %) мазута и эмульсола была у штаммов, которые синтезировали поверхностно-активные вещества.

Эти данные коррелируют с результатами исследований других авторов, которые показали, что штамм *R. erythropolis* лучше усваивал н-тетрадекан и н-гексан, чем минеральное масло и н-декан. Деструкция н-тетрадекана и н-гексана подтверждалась высоким уровнем поглощения кислорода (2,86 и 2,82 мл O_2 /мг клетки) по сравнению с меньшими показателями при деструкции минерального масла (0,87 мл O_2 /мг клетки) [46].

Исследование способности штаммов актинобактерий расти на ММ марки Hokkaido (Nippon Steel Company of Japan at Hokkaido) показало, что все они лучше росли на свежих, чем на отработанных маслах [36]. Наиболее активными деструкторами этих масел оказались штаммы *Gordonia terrae* A1, *Nocardia simplex* W9, *Rhodococcus* sp. S6 и *Rhodococcus* sp. 172. Установлено, что в составе свежего масла содержалось 28,6 % насыщенных, 37,0 % ароматических, 21,4 % смолистых и 13,0 % асфальтеновых фракций углеводородов, а в использованном масле – 78,4 %; 12,4 %; 8,8 % и 0 % соответственно. Показано, что деструкция насыщенных, ароматических и смолистых фракций углеводородов штаммом *Rhodococcus* sp. 172 составляла соответственно 26,0 %; 29,8 % и 0 %, штаммом *G. terrae* A1 – 13,9 %; 4,5 % и 0 %, наибольших значений (52,5 %, 38,1 % и 18,8 % соответственно) она достигала у штамма *N. simplex* W9.

Скорость микробной деструкции масел зависит от многих факторов, включающих концентрацию и биоаккумуляцию субстрата, свойства штаммов-деструкторов, природные условия и другие параметры [3, 4, 51]. Показано, например, что усвоение технического турбинного масла и смеси н-парафинов с длиной углеводородной цепи $C_{14} - C_{18}$ штаммами *Rhodococcus erythropolis* и *Dietzia maris* зависело как от биологических особенностей штамма-деструктора, так и от солености среды [3, 4]. При использовании, как субстрата, смеси парафинов диапазон деструктивной активности *R. erythropolis* был шире и достигал максимума (6,5 – 7,0 % CO_2) при солености 0,5 – 2,0 % NaCl уже на третий день культивирования. При солености 5 % NaCl усвоение масел было низким в течение 5 суток (содержание CO_2 в газовой фазе составляло 0,5 – 1,0 %), но значительно увеличивалось (до 7,0 % CO_2) на 7 сутки роста. Штамм *D. maris* рос на техническом турбинном масле и смеси н-парафинов в более широком диапазоне солености. Усвоение турбинного масла наблюдалось при содержании в среде от 0,5 % до 7 % NaCl и достигало максимальных значений при 2 – 5 % солености. При увеличении концентрации соли в среде до 7 % процесс замедлялся, а при 10 % – практически останавливался. При использовании очищенного минерального масла дыхательная активность обоих штаммов была близкой к значениям, полученным при культивировании со смесью парафинов. Это подтверждает наличие у актинобактерий субстратной специфичности по отношению к нефтяным маслам [3, 4].

При изучении способности штаммов *Rhodococcus* и *Gordonia* к утилизации моторного масла марки SAE 10 (Shinnihonsekiyu Co., Japan), содержащего 1 % присадок, Кома Д. с соавт. [38] установили, что штамм *Rhodococcus* sp. NDKK48 проводил деструкцию н-алканов с длинной углеродной цепи от C_{10} до C_{18} почти на 90 %, а циклоалкановых фракций с длиной цепи от C_{16} до C_{20} – немного хуже.

Указанный штамм лучше усваивал такие соединения, как тридецилциклогексан – C₁₉ (84 %) и ундецилциклогексан – C₁₇ (41 %). Деструкция циклических соединений штаммом *Gordonia* sp. NDKY76A составляла 90 %. Установлено, что штаммы *Rhodococcus* sp. и *Gordonia* sp. способны к деструкции более чем 27 % базовой основы масла, при ее начальном содержании в среде 1 %.

Показано, что важным фактором, лимитирующим микробную деструкцию масел в загрязненной среде, является их гидрофобная природа, влияющая на поступление этих веществ в клетку. Поэтому для увеличения уровня усвоения масел в среду культивирования добавляют поверхностно-активные вещества (ПАВ) или используют микроорганизмы, синтезирующие биоПАВ. Указанные вещества уменьшают межфазное натяжение на границе раздела фаз вода–углеводород, увеличивая тем самым площадь контакта клетки с этим субстратом, что способствует его лучшему усвоению [30, 39, 44, 47]. Iwabuchi N. с соавт. [35] установлено, что масла и индивидуальные углеводороды в значительных количествах (10 % и более) проявляют токсичность по отношению к штаммам *Rhodococcus rhodohrous*, а при внесении биоПАВ или химически синтезированных ПАВ увеличивалась их способность к деструкции этих веществ и уменьшилось токсическое действие на клетки. У штаммов родококков, способных к синтезу биоПАВ, развивалась низкая чувствительность к токсическим компонентам масел и углеводородам: хороший рост на н-додекане, н-пентадекане, н-гексадекане наблюдался у штаммов с мукоидным морфотипом [35].

У микроорганизмов, не способных к синтезу биоПАВ, необходимым условием для преодоления ограниченной диффузии при транспортировке нерастворимого субстрата в клетку является высокая гидрофобность поверхности клеток, что позволяет им прилипнуть к каплям углеводородов и способствует индукции ферментов для их усвоения [3, 4, 9, 41]. В литературе имеются данные о том, что нокардиоподобные актинобактерии часто используют оба механизма – их рост на указанных субстратах может сопровождаться как синтезом ПАВ, так и увеличением гидрофобности клеточной поверхности [8, 10, 29]. Исследование взаимодействия клеток штаммов-деструкторов масел *R. erythropolis* и *D. maris* с каплями нефтяных масел показало, что в течение первых суток культивирования происходит адгезия отдельных бактериальных клеток *R. erythropolis* на поверхности капель [3]. На 2 – 3 сутки роста культуры количество адгезированных клеток значительно возрастает. Следующий этап (4 – 5 сутки) характеризуется активным размножением клеток и их проникновением во внутреннюю часть капель. Это способствует увеличению поверхности контакта клеток родококков с субстратом в результате повышения уровня гидрофобизации клеточной стенки в процессе биосинтеза эфиров миколовых кислот. Углубление клеток внутрь капель приводит их диспергированию в мелкодисперсную эмульсию, что не только увеличивает площадь контакта бактерия-субстрат, но и способствует улучшению аэрации. Конечным результатом процесса является значительная утилизация субстрата и заполнение клетками капель масла, которые превращаются в своеобразные микроколонии и теряют свою круглую форму. В отличие от *R. erythropolis*, у *D. maris* адгезированные клетки не проникают внутрь капель масла, а образуют микроколонии на их поверхности [4]. Очевидно, это связано с низкой гидрофобизацией клеток *D. maris* и формированием липофильных каналов в клеточной стенке этой культуры, которые обеспечивают поступление гидрофобных субстратов в клетку [4, 9].

Процесс деструкции углеводов, в частности, минеральных масел часто

происходит за счет экспрессии плазмидных генов [14]. Исследования, проведенные Плешаковой Е.В. [14], выявили наличие трех плазмид биодegradации: pAc (120 kb); pAc1 (9 kb) и pAc2 (8kb) у *Acinetobacter calcoaceticus* TM-31 – наиболее активного штамма-деструктора, который входит в состав микробного консорциума, утилизирующего минеральные масла. Установлено, что на плазмиде pAc2 находятся гены, которые кодируют ферменты, осуществляющие деструкцию нафтно-парафиновой фракции минерального масла. Все обнаруженные плазмиды стабильно наследовались в процессе хранения, а безплазмидные варианты в популяции не обнаружены. Иногда может наблюдаться сложное взаимодействие между плазмидными и хромосомными генами – деструкция ксенобиотиков одним штаммом может кодироваться частично как плазмидными, так и хромосомными генами. Так, показано [50], что у штамма *Rhodococcus* sp. I24 метаболизм полициклических ароматических углеводородов контролируется геном *nidABCD*, а гены катаболизма нафталина присутствуют в хромосоме и в плаزمидах.

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует о том, что загрязнение окружающей среды смазочными материалами, в частности, минеральными моторными маслами, является актуальной экологической проблемой современности. Одними из основных природных деструкторов ММ является бактерии, среди которых часто обнаруживаются представители различных родов актинобактерий (*Mycobacterium*, *Gordonia*, *Nocardia*, *Rhodococcus*). Способность актинобактерий утилизировать ММ в качестве единственного источника углерода и энергии является подтверждением важной роли этих микроорганизмов в загрязненных нефтепродуктами экосистемах и перспективности их использования для очистки окружающей среды от этих углеводородсодержащих токсических веществ.

Хоменко Л.А., Ногіна Т.М.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Заболотного, 154, Київ 03143, Україна*

МІКРОБНА ДЕСТРУКЦІЯ МІНЕРАЛЬНИХ (НАФТОВИХ) МОТОРНИХ ОЛИВ

Резюме

В огляді представлені дані про склад мінеральних моторних олив, їх негативний вплив на навколишнє середовище і здатність мікроорганізмів, зокрема актинобактерій, до засвоєння вуглеводневих компонентів олив. Описана роль бактерій у процесах очищення забруднених моторними оливами середовищ і перспектива їх використання в біотехнологіях очищення довкілля від цих полютантів.

Ключові слова: актинобактерії, вуглеводні, моторні оливи, біодеструкція.

Homenko L.A., Nogina T.M.

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

MICROBIAL DESTRUCTION MINERAL (OIL) MOTOR OIL

Summary

In a review information is presented about composition of mineral motor oils and their negative impact on the environment and the ability of microorganisms, in particular acti-

nobacteria, to assimilate hydrocarbon oil components. The role of bacteria is described in the process of cleaning up polluted environments motor oils and the prospect of their use in biotechnology, environmental clean-up of these pollutants.

The paper is presented in Russian.

К е у в о р д с: actinobacteria, hydrocarbons, motor oil, biodegradation.

1. ДСТУ 4247:20003. Нафтопродукти. Метод визначення біорозщеплюваності (СЕС L-33-A-93, NEQ). – Київ: Держспоживстандарт України. – 2004. – 14 с.
2. Евдокимов А.Ю., Фукс И.Г., Шаблина Т.Н., Багдасаров Л.Н. Смазочные материалы и проблемы экологии. – Москва: Нефть и газ, 2000. – 423 с.
3. Звягинцева И.С., Суровцева Э.Г., Поглазова М.Н., Ивойлов В.С., Беляев С.С. Деградация нефтяных масел нокардиоподобными бактериями // Микробиология. – 2001. – 70, № 3. – С. 321–328.
4. Звягинцева И.С., Поглазова М.Н., Готоева М.Т., Беляев С.С. Влияние солености среды на деструкцию нефтяных масел нокардиоподобными бактериями // Микробиология. – 2001. – 70, № 6. – С. 759–764.
5. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Рычкова М.И. Экологические аспекты использования алканотрофных родококков – новых продуцентов биосурфактантов // Экологическая безопасность зон градопромышленных агломераций Западного Урала. – Пермь, 1993. – С. 29–30.
6. Ившина И.Б. Бактерии рода *Rhodococcus* (иммунодиагностика, детекция, биоразнообразие): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Пермь, 1997. – 98 с.
7. Караулов А.К., Худолый Н.Н. Автомобильные масла. Моторные и трансмиссионные. Ассортимент и применение: Справочник. – Киев: Журнал „Радуга”. – 2000. – 436 с.
8. Карпенко Е.В., Вильданова-Марцишин Р.И., Щеглова Н.С., Пирог Т.П., Волошина И.Н. Перспективы использования бактерий рода *Rhodococcus* и микробных поверхностно-активных веществ для деградации нефтяных загрязнений // Прикл. биохимия и микробиология – 2006. – 42, № 2. – С. 175–179.
9. Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде // Прикл. биохимия микробиология – 1996. – 32, № 6. – С. 579–585.
10. Куюкина М.С. Биосуфактанты актинобактерий рода *Rhodococcus*: (индуцированный биосинтез, свойства, применение): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Пермь, 2006. – 45с.
11. Макарова М. Ю. Характеристика некоторых представителей углеводородокисляющей микрофлоры Усинского нефтяного месторождения // Вест. Инст. Биолог. – 2000. – № 34. – С. 35–42.
12. Милехина Е.И., Борзенков И.А., Звягинцева И.С., Кострикина Н.А., Беляев С.С. Свойства углеводородокисляющей бактерии *Rhodococcus erythropolis*, изолированной из нефтяного месторождения // Микробиология. – 1998. – 67, № 3. – С. 328–332.
13. Муратова А.Ю., Турковская О.В. Деградация минеральных масел селекционированной микробной ассоциацией // Прикл. биохимия и микробиология. – 2001. – 37, № 2. – С. 175–180.
14. Плешакова Е.В. Биодеградация ПАВ и минеральных масел и ее генетическая природа: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 1999. – 23 с.

15. Протасов В.Ф., Молчанов А.В. Экология, здоровье и природопользование в России. – Москва: Финансы и статистика. – 1995. – 528 с.
16. Руденко Б.А., Шлихтер Э.Б. Полициклические ароматические углеводороды и их влияние на окружающую среду. – Москва: ЦНИИТЭнефтехим. – 1994 – 274 с.
17. Торопова Е.Г., Матюша Г.В., Белоусова А.А. Бактерии, разрушающие технические масла // Микробиология. – 1986. – **55**, № 3. – С.526 – 527.
18. Турковская О.В., Муратова А.Ю., Панченко Л.В. Разработка приемов утилизации маслосодержащих сточных вод // Биотехнология. – 2000. – № 3. – С. 73–82.
19. Худоормов А.А. Интенсификация процесса биодеструкции углеводородов актинобактериями в модельных системах и полевых условиях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ставрополь, 2006. – 20 с.
20. Чайка О. Г. Попередження забруднення навколишнього природного середовища відпрацьованими моторними оливами: Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Суми, 2012. – 24 с.
21. Чайка О. Г., Ковальчук О.З., Чайка Ю.А. Моніторинг утворення відпрацьованих олив в Україні // Вісн. Нац. ун-ту «Львів. політехніка». – 2009. – № 644. – С. 221–223.
22. Чайка О. Г., Чайка Ю.А. Порівняльний аналіз методів очищення відпрацьованих олив на Україні та за її межами // Вісн. Нац. ун-ту «Львів. політехніка». – 2009. – № 644. – С. 224–228.
23. Экологическая безопасность автомобильного транспорта / Под ред. Амбарцумян В.В., Носов В.Б., Тагасов В.И., Сарбаев В.И. – Москва: Научтехлитиздат. – 1999. – 208 с.
24. Abioye P.O., Aziz A.A., Agamuthu P. Enhanced Biodegradation of Used Engine Oil in Soil Amended with Organic Wastes // Water Air Soil Poll. – 2010. – **209**. – P. 173–179.
25. Abdulsalam S., Omale A.B. Comparison of Biostimulation and Bioaugmentation Techniques for the Remediation of Used Motor Oil Contaminated Soil // Braz. Arch. Biol. Techn. – 2009. – **52**, N 3. – P. 747–754.
26. Akoachere J-F T. K., Akenjil T. N., Yongabi F. N., Nkwelang G., Ndip R. N. Lubricating oil-degrading bacteria in soils from filling stations and auto-mechanic workshops in Buea, Cameroon: occurrence and characteristics of isolates // Afr. J. Biotechnol. – 2008. – **7**, N 11. – P. 1700–1706.
27. Bagherzadeh-Namazi A., Shojaosadati S. A., Hashemi-Najafabadi S. Biodegradation of Used Engine Oil Using Mixed and Isolated Cultures // Int. J. Environ. Res. – 2008. – **2**, N 4. – P.431–440.
28. Bell K.S., Philp J.C., Aw D.W.J., Christofi N. The genus *Rhodococcus* // J. Appl. Microbiol. – 1998. – **85**, N 1. – P. 195–210.
29. Bredholt H., Bruheim P., Potocky M., Eimhjellen K. Hydrophobicity development, alkane oxidation, and crude-oil emulsification in a *Rhodococcus* species // Can. J. Microbiol. – 2002. – **48**, N 2. – P. 295–304.
30. Christofi N., Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Philp J.C. Biological treatment of crude oil soil in Russia // In: Lerner D.N., Walton N.R.G. (eds.). Contaminated land and groundwater: future directions. Geological Society, London, Engineering Geology Special Publications. – 1998. – **14**. – P.45–51.
31. Biodegradability of Two-Stroke Cycle Outboard Engine Oils in Water (Archive Copy). CEC Code: CEC L-33-A-93 (U).

32. Dominguez-Rosardo E., Pichtel J., Coughlin M. Phytoremediation of soil contaminated with used motor oil: II. Greenhouse studies // Environ. Eng. Sci. – 2004. – **21**, N 2. – P. 169–180.
33. Finnerty W.R. Alkanotrophic rhodococci and their biotechnological potential // Ann. Rev. Microbiol. – 1992. – **46**. – P.193–218.
34. Horowitz A., Gutnick D., Rosenberg E. Sequential growth of bacteria on crude oil // Appl. Microbiol. – 1975. – **30**, N 1. – P.10–19.
35. Iwabuchi N., Sunairi M., Anzai H., Nakjima M., Harayama S. Relationships between colony morfotypes and oil tolerane in *Rhodococcus rhodochrous* // Appl. Environ. Microb. – 2000. – **66**, N 11. – P. 5073–5077.
36. Jirasripongpun K. The characterization of oil-degrading microorganisms from lubricating oil contaminated (scale) soil // Lett. Appl. Microbiol. – 2002. – **35**, N 1. – P. 296–300.
37. Koma D., Hasumi F., Yamamoto E., Ohta T., Chung S.Y., Kubo M. Biodlong-chain n-paraffins from waste oil of car engine by *Acinetobacter* sp. // J. Biosci. Bioengin. – 2001. – **91**, N 1. P. 94–96.
38. Koma D., Sakashita Y., Kubota K., Fujii Y., Hasumi F., Chung S.Y., Kubo M. Degradation of Car Engine Base Oil by *Rhodococcus* sp. NDKK48 and *Gordonia* sp. NDKY76A // Biosci. Biotech. Bioch. – 2003. – **67**, N 7. – P. 1590–1593.
39. Lang S., Philp J.C. Surfase-active lipids in Rhodococci // Antonie van Leeuwenhoek – 1998. – **74**, N 1. – P. 59–70.
40. Lin J. and T. Mandri. Isolation and characterization of engine oil degrading indigenous microorganisms in Kwazulu-Natal, South Africa// Afr. J. Microbiol. – 2007. – **6**, N 1. – P. 23–27.
41. Neu T.R. Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces // Microbiol. Rev. – 1996. – N 60. – P. 151–166.
42. Newman A.P., Pratt C.J., Coupe S.J., Cresswell N. Jil. Bio-degradation in permeable pavements by microbial communities // Water Sci. Technol. – 2002. – **45**, N 7. – P. 51–56.
43. Plohl K., Leskovšek H. Biological degradation of motor oil in water // Acta. Chim. Slov. – 2002. – **49**, N 2. – P. 279–289.
44. Philp J.C., Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Dunbar S.A., Christofi N., Lang S., Wray V. Alkanotrophic *Rhodococcus ruber* as a biosurfactant producer // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2002. – **59**. – P.318–324.
45. Peressutti S.R., Alvarez H.M., Pucci O.H. Dynamics of hydrocarbon-degrading bacteriocenosis of an experimental oil pollution in Patagonian soil // Int. Biodeter. Biodegr. – 2003. – **52**. – P. 21–30.
46. Saadoun I. Degradation of complex mineral oil and other hydrocarbons by *Rhodococcus erythropolis* // Actinomycetes. – 1997. – **8**, N 3. – P. 53–57.
47. Singer M.E. Vogt, Finnerty W.R. Physiology of biosurfactant synthesis by *Rhodococcus species* H13-A // Can. J. Microbiol. – 1990. – **36**, N 11 – P. 741–745.
48. Sorkhoh N.A., Ghannoum M.A., Ibrahim A.S., Stretton R.J., Radwan S.S. Crude oil and hydrocarbon-degrading strains of *Rhodococcus rhodochrous* isolated from soil and marine environments in Kuwait // Environ. Pollut. – 1990. – **65**, N 1. – P. 1 – 17.
49. Thenmozhi, R., Nagasathya, A., Thajuddin N. Studies on Biodegradation of Used

Engine Oil by Consortium Cultures // Adv. Environ. Biol. – 2011. – **5**, N 6. – P. 1051.– 1057.

50. Treadway S. L., Yanagimachi K. S., Lankenau E., Lessard P. A., Stephanopoulos G., Sinskey A. J. Isolation and characterization of indene bioconversion genes from *Rhodococcus* strain I24 // Appl. Microbiol. Biotechnol.- 1999. – **51**, N 57. – P.786–793.
51. Toshiki F., Sato R., Ishii Y. Biodesulfurization of Naphthothiophene and Benzothiophene through Selective Cleavage of Carbon-Sulfur Bonds by *Rhodococcus* sp. strain WU-K2R // Appl. Environ. Microb. – 2002. – **68**, N 8. – P. 3867–3872.
52. Yuste L., Corbella M. E., Turiegano M. J., Karlson U., Puyet A., and Rojo F. Characterization of bacterial strains able to grow on high molecular mass residues from crude oil processing // FEMS Microbiol. Ecol. – 2000. – **32**. – P.69–75.
53. Zhao D., Liu C., Liu L., Zhang Y., Liu Q., Wu W-M. Selection of functional consortium for oil-contaminated soil remediation// Int. Biodeter. Biodegr. – 2011. – N 65. – P.1244–1248.

Отримано 10.02.2015