

УДК 57.02.001; 504.4.054; 504.4.06

ИММОБИЛИЗАЦИЯ БАКТЕРИЙ НА ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦАХ ДЛЯ ДЕГРАДАЦИИ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ

Е.О. Омарова, Е.С. Лобакова, Г.А. Дольникова, В.В. Некрасова¹,
Р.К. Идиатулов², П.Б. Кашеева¹, Н.Г. Перевертайло¹, А.Г. Дедов¹

(кафедра биоинженерии; e-mail: elena.lobakova@rambler.ru)

Синтезированы органические полимерные материалы (ОПМ), характеризующиеся различным набором функциональных групп, толщиной и характером поверхности волокон, плотностью их упаковки в полотно. Проведено изучение ОПМ с целью оценки возможности их использования в качестве сорбентов для ликвидации нефтяных разливов на акваториях. Синтезированные ОПМ использовали в качестве матриц для иммобилизации бактерий рода *Rhodococcus* sp., способных к деградации нефти, при создании биогибридных материалов. На поверхности волокон показано присутствие активно делящихся бактериальных клеток, что приводит к формированию кластеров. Отмечен активный характер прикрепления клеток к поверхности путем интрузии и/или выделения внеклеточного полимерного матрикса. Показано влияние модификации полимерных материалов на иммобилизацию бактерий. Отмечены особенности развития и специфичность клеточной морфологии бактериальной культуры.

Ключевые слова: нетканые полимерные материалы, нефть и нефтепродукты, бактерии, иммобилизация, деструкция.

На этапах добычи, транспортировки и переработки нефти существует большой риск аварийного разлива нефтепродуктов. В воды Мирового океана по разным оценкам ежегодно попадает 1,5–17 млн м³ нефти и нефтепродуктов, что отрицательно сказывается на окружающей среде [1–3]. При аварийном разливе и попадании в водоем они покрывают поверхность воды устойчивой пленкой, что оказывает губительное воздействие на живые организмы. По данным аэрокосмической съемки, в настоящее время значительная часть поверхности Мирового океана покрыта такой пленкой [4].

Микроорганизмы — представители различных таксономических групп — рр. *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, грибы-микровицеты, облигатные нефтедеградирующие бактерии рр. *Alcanivorax*, *Marinobacter*, *Thalassolituus*, *Cycloclasticus*, *Oleispira* и другие обладают способностью к деградации углеводородов нефти и нефтепродуктов [5, 6]. На их основе создаются биопрепараты, которые используют на последней (“полировочной”) стадии ликвидации нефтяных разливов [2, 4, 7]. Бактерии рода *Rhodococcus* занимают особое положение при разработке биопрепаратов [8]. Благодаря наличию значительного количества линейных плазмид, способствующих активации различных генов катаболических путей, родококки обладают “катаболической универсальностью”. Они способны разрушать широкий ряд органических соединений, в том числе высокоус-

тойчивых и биотоксичных [9, 10]. В ходе эволюции они приобрели способность к гидрофобизации клеточной стенки при наличии углеводородов, что облегчает транспорт последних к ферментам цитоплазматической мембраны [11].

Установлено, что у бактериальных клеток в иммобилизованном состоянии в составе биопрепаратов повышается устойчивость к неблагоприятным воздействиям окружающей среды, увеличивается деструктивный потенциал [2, 12]. В связи с этим большие перспективы имеет создание систем, объединяющих сорбенты и микроорганизмы, способные к окислению углеводородов нефти [12–14]. В таких системах удаление нефти и нефтепродуктов из водной среды происходит как с помощью поглощения их сорбентом, так и деструкции бактериями. Важным преимуществом таких систем является способность к саморегенерации, основанной на способности микроорганизмов утилизировать углеводороды как при контакте системы с водонефтяной эмульсией, так и в сорбенте, адсорбировавшем нефть и нефтепродукты, после разделения фаз. В результате исключается необходимость отделения нефтепродуктов от сорбента, а также облегчается последующая утилизация отработанных материалов. Подобные системы на основе сорбентов, являющихся матрицами для бактерий-нефтедеструкторов, могут являться основой при разработке безотходной технологии ликвидации аварийных разливов нефти.

¹ Российский государственный университет нефти и газа имени И.М. Губкина, Россия, 119991, г. Москва.

² НИИ синтетического волокна с экспериментальным заводом, Россия, 170032, Тверь.

В качестве сорбентов-матриц возможно использование древесных опилок, которые широко доступны в России, дешевы и экологически безвредны [12]. Однако обладая высокой гидрофильностью, они требуют обязательного проведения модификаций, способствующих их гидрофобизации. Только в этом случае увеличивается их сорбционная емкость по отношению к нефти, улучшается плавучесть и снижается водопоглощение. Кроме того, древесные опилки обладают низкими значениями нефтеемкости по сравнению с сорбентами из полимерных нетканых материалов. Часто дополнительная гидрофобизация матриц проводится и для увеличения количества иммобилизованных бактерий [12].

Полимерные нетканые материалы лишены вышеперечисленных недостатков. Они обладают высокой нефтеемкостью, низким водопоглощением и возможностью регенерации [15, 16]. Применение различных химических модификаций материалов приводит к дополнительному повышению избирательной сорбции ими нефти и нефтепродуктов из водной среды [17]. Однако использование их в качестве сорбентов приводит к возникновению проблемы утилизации отработанных материалов, содержащих остатки нефти и нефтепродуктов. Большинство отработанных сорбентов утилизируют, в том числе и сжигая вместе с остатками сорбированной нефти, что наносит ущерб окружающей среде. Одним из предлагаемых подходов для удаления сорбированной нефти из полимерных нетканых материалов является их обработка биосурфактантами бактериального происхождения [18]. Препятствием на пути практической реализации данного подхода может стать необходимость наработки значительных количеств биосурфактантов и дальнейшая необходимость утилизации получающихся органических смесей. В этой связи создание саморегенерирующихся систем на основе нетканых полимерных материалов и иммобилизованных бактерий-нефтедеструкторов представляется более перспективным подходом. Немаловажным свойством таких материалов является высокопористая волокнистая структура, обеспечивающая большую площадь для иммобилизуемых бактерий.

Сведения об использовании нетканых полимерных материалов в качестве матриц для микроорганизмов единичны [19, 20].

К сожалению, до настоящего времени свойства матриц, определяющие высокую степень иммобилизации, не установлены. Так, бактерии рода *Rhodococcus* были успешно иммобилизованы на керамических и целлюлозных матрицах, однако адгезия клеток на стеклянных шариках с гидрофобной или гидрофильной поверхностью не произошла [21]. Известны случаи инактивации ферментов, вовлеченных в деградацию субстрата, из-за несбалансированного распределения зарядов на клеточной поверхности клетками после ковалентного связывания их с полиуретановой матрицей [22].

Изучение морфофизиологического состояния бактерий при их иммобилизации на сорбентах на основе нетканых полимерных материалов является актуальной задачей.

Объекты и методы

Синтез материалов на основе различных полимеров проводился фильерным способом: исходное сырье (в виде гранул) расплавляли или растворяли в плавильном/растворном устройстве, расплав/раствор полимера фильтровали для удаления примесей и продавливали через фильерный комплект с формированием волокон [23]. Такой способ позволил получить органические полимерные материалы (ОПМ) с различным набором функциональных групп и с различной структурой: разной толщиной волокон и плотностью упаковки волокон в полотне, характером поверхности волокон (образцы ОПМ-1, ОПМ-2, ОПМ-3, ОПМ-4). Материалы ОПМ-1 и ОПМ-2 были получены на основе одного полимера и содержат алкильные группы. Материал ОПМ-3 содержит карбонильные группы. Образец ОПМ-4 содержит алкильные, нитрильные, карбонильные группы и представляет собой композиционный материал с углем в качестве наполнителя.

Оценку сорбционной емкости ОПМ в отношении воды и нефти ($\rho = 855 \text{ кг/м}^3$) проводили согласно стандарту ASTM F 726-06 [24].

Для выяснения влияния гидрофильно-гидрофобных свойств полимеров на иммобилизацию бактерий был синтезирован образец ОПМ-39 (аналогичный по полимерному составу матрицам ОПМ-1 и ОПМ-2) и проведена его модификация поверхностно-активным веществом с целью придания ему гидрофильных свойств. В качестве поверхностно-активного вещества было использовано водорастворимое вещество ОП-10, представляющее собой продукт обработки смеси моно- и диалкилфенолов окисью этилена и относящееся к соединениям с техническим названием полиоксиэтилированные алкилфенолы с общей для подобных соединений формулой $\text{RC}_6\text{H}_4\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, где R — алкильный остаток, $R = 8-12$, $n = 10-12$. Нанесение поверхностно-активного вещества осуществлялось непосредственно в процессе формования путем напыления 1%-го водного раствора ОП-10 на поверхность формирующегося нетканого материала. Модифицированный образец получил индекс ОПМ-36.

Синтезированные ОПМ использовали в качестве матриц для иммобилизации бактерий при создании биогибридных материалов.

Для исключения влияния на культуру бактерий токсических веществ, оставшихся на поверхности волокон после формования, проводили предварительную отмывку синтезированных ОПМ. Для этого образцы ОПМ помещали в колбы Эрленмейера со сте-

рильной дистиллированной водой и выдерживали на перемешивающем устройстве качалочного типа в течение суток.

В качестве биологической составляющей биогибридных материалов использовали бактериальную культуру *Rhodococcus* sp., выделенную из почвы, загрязненной нефтью, и хранящуюся в музее кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Поддержание культуры *Rhodococcus* sp. проводили на жидкой и твердой (2%-й агар) питательной среде Эванса [25].

Иммобилизацию бактерий на полимерных материалах (матрицах) проводили в жидкой питательной среде Эванса методом адсорбции. Для этого бактериальную культуру, выращенную на твердой питательной среде Эванса в течение 3 сут, петлей переносили в колбу с жидкой средой аналогичного состава, имеющей нейтральное значение pH, и получали суспензию с клеточной плотностью 10^4 – 10^5 клеток в 1 см³. В колбу с полученной бактериальной суспензией погружали фрагмент образца полимерной матрицы и культивировали в динамических условиях (на перемешивающем устройстве качалочного типа) в течение суток при температуре 23°. Для закрепления клеток на поверхности полимерных волокон их инкубировали при температуре 4° в течение 12 ч. Для удаления неприкрепившихся клеток матрицы подвергали отмывке последовательным трехкратным погружением в питательную среду Эванса.

Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) образцы полученных биогибридных материалов фиксировали 2%-м раствором глутарового альдегида на 0,1 М каодилатном буфере pH 7,2 в течение 1,5 ч, обезвоживали в серии растворов этанола возрастаю-

щей концентрации, из 100%-го этанола переносили в 100%-й ацетон, затем высушивали при критической точке на установке “Dryer HCP-2” (Hitachi, Япония), напыляли золотом с палладием на ионно-напылительной установке “IB-3 Ion Coater” (Eiko, Япония) и исследовали с помощью микроскопа JSM-6380LA (JEOL, Япония).

Результаты и обсуждение

Синтезированные ОПМ имели разную структуру и плотность упаковки волокон в полотне, а также разный характер поверхности волокон (табл. 1), (рис. 1). Ориентация волокон в полотне матрицы образца ОПМ-2 была преимущественно параллельная с большим межволоконным пространством, в то время как остальные материалы характеризовались

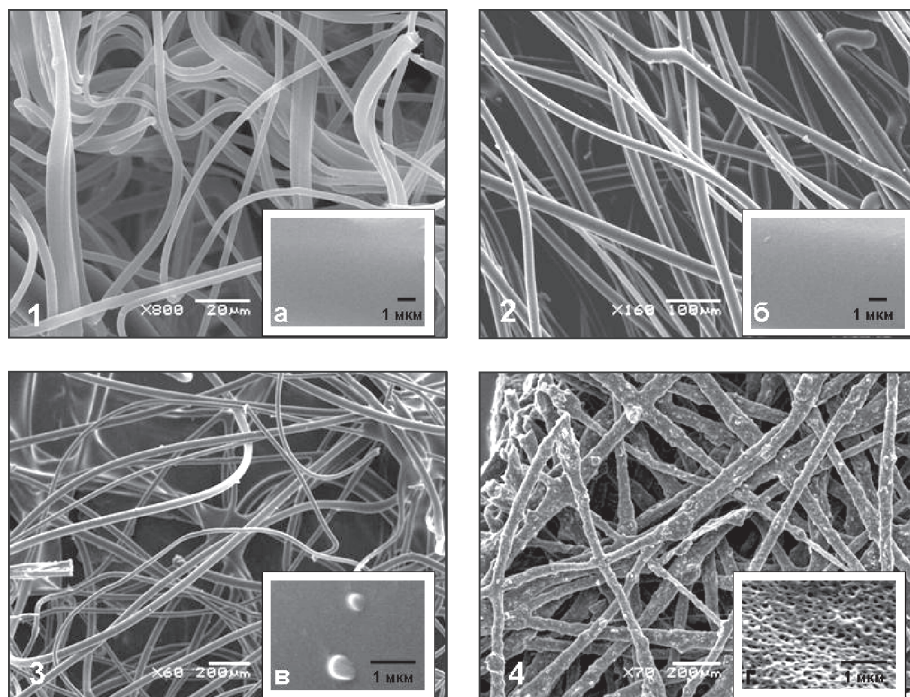


Рис. 1. Особенности структурной организации органических полимерных материалов (ОПМ): 1 — образец ОПМ-1; 2 — образец ОПМ-2; 3 — образец ОПМ-3; 4 — образец ОПМ-4; а, б, в, г — фрагменты поверхности волокон. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

Таблица 1

Характеристика органических полимерных материалов (ОПМ)

Образец	Функциональные группы	Поверхностная плотность, г/м ²	Характер поверхности волокон	Сорбционная емкость в отношении нефти, г нефти/г материала	Сорбционная емкость в отношении воды, г воды/г материала	Плаваемость в течение суток
ОПМ-1	алкильные	192	гладкий	12,4	0,9	высокая
ОПМ-2	алкильные	134	гладкий	19,6	0,6	высокая
ОПМ-3	карбонильные	102	гладкий, с редкими бугорками	26,5	28,3	средняя
ОПМ-4	алкильные нитрильные карбонильные	172	наноструктурированный	8,1	9,8	низкая

Таблица 2

**Характеристика бактериальной культуры *Rhodococcus* sp.,
иммобилизованной на волокнах органических полимерных материалов (ОПМ)**

Образец	Характер распределения клеток на поверхности волокон	Особенности прикрепления клеток к поверхности волокон	Доминирующие формы и размеры клеток (длина × ширина)
ОПМ-1	тенденция к формированию монослоя клеток; единичные кластеры, состоящие из скопления клеток	формирование слизистого матрикса	короткие палочки (0,7 мкм × 0,5 мкм); удлиненные клетки (3,5 мкм × 0,8 мкм)
ОПМ-2	единичные клетки	—	удлиненные клетки (2,5 мкм × 0,8 мкм)
ОПМ-3	редкие одиночные клетки; небольшое количество кластеров, состоящих из скопления клеток	интрузия клеток в волокно	удлиненные клетки (2,5 мкм × 0,8 мкм)
ОПМ-4	тенденция к формированию монослоя клеток; большое количество кластеров, состоящих из скопления клеток	ориентированное прикрепление клеток	нитевидные клетки (11 мкм × 0,9 мкм); кокковидные клетки (0,8 мкм × 0,7 мкм); булавовидные клетки (1,2 мкм × 0,8 мкм)

хаотичной укладкой. Плотное переплетение волокон в полотне матриц обусловило высокую поверхностную плотность образцов ОПМ-1 и ОПМ-4. Характер поверхности волокон преимущественно гладкий. На поверхности волокон образца ОПМ-4 обнаружены нанопоры.

Проведена оценка сорбционной емкости полученных ОПМ в отношении воды и нефти в статических условиях (табл. 1). Данные параметры наряду с плавучестью являются важными показателями при оценке функциональных свойств материалов в условиях нефтеразлива на акваториях. Образцы ОПМ-1 и ОПМ-2 находились на поверхности воды в течение суток, в то время как образец ОПМ-4 постепенно погружался на дно колбы. Из рассматриваемых в данной статье образцов матриц наиболее перспективным в качестве сорбента является ОПМ-2, характеризующийся достаточно высокой сорбционной емкостью в отношении нефти и одновременно низким водопоглощением, в то время как образец ОПМ-1 наряду с высокой сорбцией нефти сильно впитывал воду, что ограничивает возможности его применения при сборе поверхностных пленок нефти без дополнительных модификаций.

Бактериальная культура *Rhodococcus* sp. наиболее эффективно заселяла образцы ОПМ-1 и ОПМ-4: выявлено достаточно равномерное распределение клеток на всей поверхности волокон матриц (табл. 2). Однако характер распределения клеток на поверхности волокон был различен. Отмечена тенденция к формированию монослоя бактериальных клеток на поверхности волокон образца ОПМ-1 (рис. 2, а), в то время как на поверхности волокон образца ОПМ-4 помимо

монослоя на некоторых участках обнаружены скопления бактериальных клеток и формирование “кластеров” в результате их активного деления (рис. 2, в). Данный факт может свидетельствовать о благоприятных условиях развития бактериальной культуры. Кроме того, в отличие от образца ОПМ-4 бактериальные клетки на поверхности волокон образца ОПМ-1 выделяли слизистый биополимерный матрикс, часто оказываясь погруженными в него (рис. 3, в). Можно предположить, что несмотря на активное заселение клетками волокон обеих матриц разная полимерная природа образцов ОПМ-1 и ОПМ-4 обуслов-

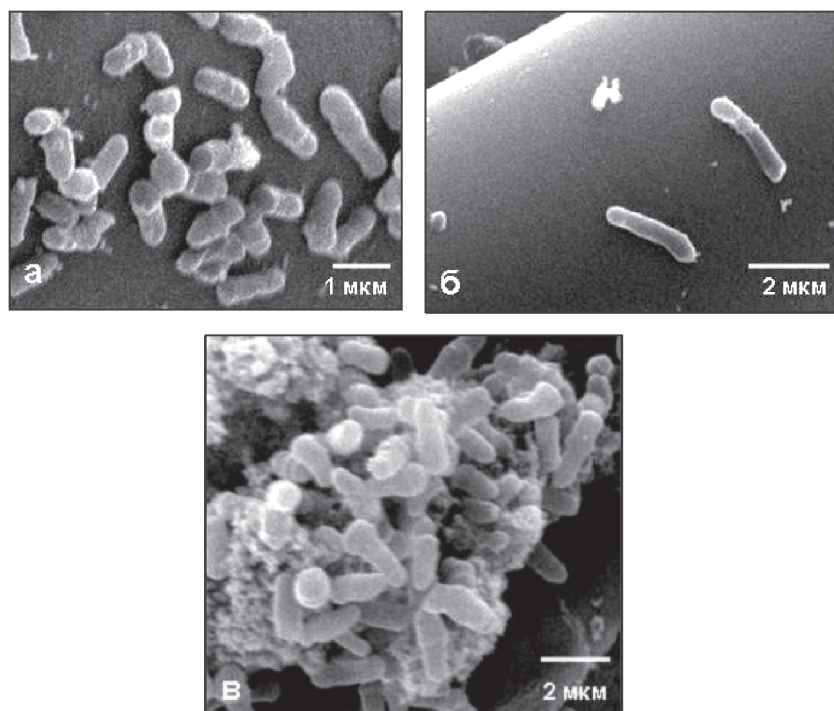


Рис. 2. Различные формы заселения клетками бактериальной культуры *Rhodococcus* sp. волокон органических полимерных материалов (ОПМ): ОПМ-1 — тенденция к формированию монослоя (а); ОПМ-2 — единичные клетки (б); ОПМ-4 — кластер, состоящий из скопления клеток (в). Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

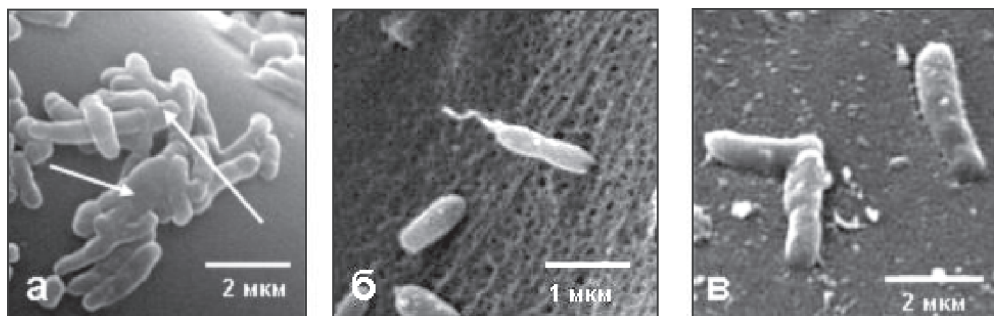


Рис. 3. Особенности прикрепления бактериальных клеток *Rhodococcus* sp. к поверхности волокон органических полимерных материалов (ОПМ): биополимерный матрикс (указан стрелкой) на волокне ОПМ-1 (а); ориентированное прикрепление к поверхности волокна ОПМ-4 (б), интрузия в волокно образца ОПМ-3 (в). Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

ливает селективный характер взаимодействия бактериальной культуры с последними. Другие авторы также сообщают о разном характере распределения клеток на поверхности матриц различной природы: на целлюлозной матрице наблюдали локальное концентрирование клеток, в то время как поверхность керамической подложки была полностью колонизирована бактериями в виде монослоя, развивающегося с течением времени в биопленку [21]. Следует отметить, что образцы ОПМ-1 и ОПМ-4, не подвергавшиеся отмывке от токсичных веществ, также активно заселялись культурой *Rhodococcus* sp., как и образцы, предварительно подвергнутые отмывке

перед иммобилизацией. Отсутствие дополнительных затрат на отмывку полимерных матриц перед иммобилизацией бактериальных культур может являться преимуществом при промышленном синтезе биогибридных материалов. Химическая природа матриц не является определяющим фактором при выборе бактериальной культуры для заселения волокон (табл. 2). Так, несмотря на одинаковый набор функциональных групп в образцах ОПМ-1 и ОПМ-2, выявлен различный характер распределения бактериальных клеток на поверхности волокон. На поверхности волокон образца ОПМ-2 обнаруживали лишь редкие единичные клетки бактерий, не образуется слизистый матрикс, тенденция к формированию монослоя клеток отсутствует (рис. 2, б). Можно предположить, что отмывка образца ОПМ-2, в отличие от образца ОПМ-1, оказалась недостаточной. Образец ОПМ-2 мог содержать используемые при формировании волокон фильтруемые растворители, которые оказались токсичными для иммобилизуемой бактериальной культуры. Поэтому разработка экспресс-метода определения токсичности ОПМ по отношению к иммобилизуемой бактериальной культуре является актуальной задачей.

На волокнах сорбента ОПМ-3 выявлены одиночные бактериальные клетки, редко встречаются кластеры (табл. 2).

Среди ОПМ, используемых бактериальной культурой *Rhodococcus* sp. в качестве матриц для заселения, характер поверхности волокон не оказывал влияния на процесс иммобилизации. Факт иммобилизации клеток бактерий зафиксирован как на наноструктурированной поверхности сорбента ОПМ-4 (рис. 3, б), так и на практически гладкой поверхности волокон ОПМ-1 (рис. 3, а) и ОПМ-3 (рис. 3, в).

Выявлен разный характер прикрепления бактериальных клеток к поверхности волокон матриц, проявляющийся в разном способе их прикрепления (табл. 2). Например, отмечена частичная интрузия (внедрение) клеток бактерий в волокна образца ОПМ-3 (рис. 3, в). Выявлено ориентированное прикрепление бактериальных клеток к поверхности волокон образца ОПМ-4 (рис. 3, б). Как было отмечено ранее, иммобилизация бактериальных клеток на поверхности волокон ОПМ-1 сопровождалась выделением внеклеточного биополимерного матрикса (рис. 3, а).

Для выбранной бактериальной культуры в свободноживущем состоянии характерен плеоморфизм, проявляющийся в наличии клеток разной формы на разных стадиях жизненного цикла: палочковид-

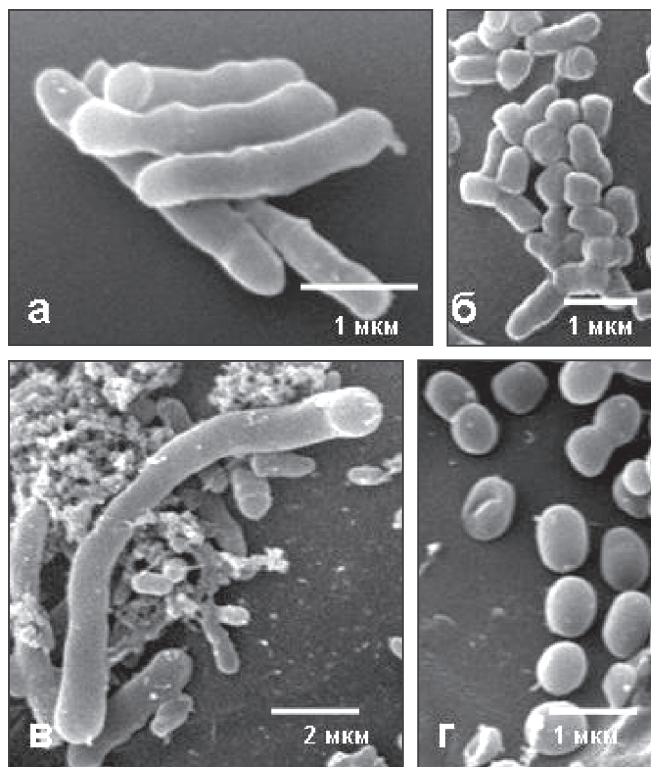


Рис. 4. Различные морфотипы клеток культуры *Rhodococcus* sp. на поверхности волокон органических полимерных материалов (ОПМ): удлиненные клетки (а), короткие палочки (б) на поверхности волокон образца ОПМ-1; нитевидные (в), кокковидные (г) клетки на поверхности волокон матрицы ОПМ-4. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

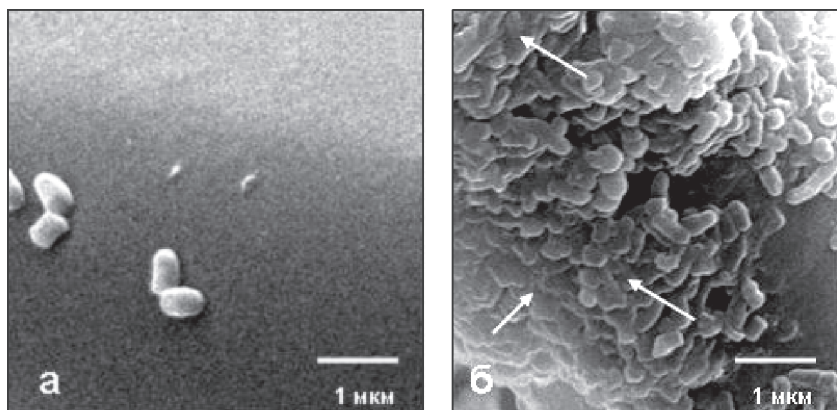


Рис. 5. Единичные клетки *Rhodococcus* sp. на поверхности матрицы ОПМ-39 (контроль) (а), плотное обрастание модифицированных гидрофилизированных волокон матрицы ОПМ-36 в виде монослоя клеток с выделением биополимерного матрикса (указан стрелкой) (б). Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

ных, кокковидных, а также клеток, расположенных под углом друг к другу (V-формы). Вместе с тем при иммобилизации бактерий на поверхности волокон различных матриц обнаружена специфичность морфологии, проявляющаяся в приуроченности клеток определенной формы к определенной матрице (табл. 2). Так, на поверхности волокон матрицы ОПМ-4 преимущественно выявлены нитевидные, кокковидные (рис. 4, в, г) и булавовидные клетки, в то время как на поверхности волокон образца ОПМ-1 отмечены удлинённые клетки и короткие палочки (рис. 4, а, б), (рис. 2, а). Данный факт может свидетельствовать о влиянии полимерной природы матриц на жизненный цикл развития бактерий *Rhodococcus* sp. при иммобилизации.

Модификация полимерной матрицы поверхностно-активным веществом позволила гидрофилизировать поверхность волокон, что привело к увеличению степени их заселения клетками бактерии *Rhodococcus* sp. в виде монослоя с выделением обильного биополимерного матрикса (рис. 5). Хотя известно, что клеточная стенка бактерий рода *Rhodococcus*

имеет мозаичный характер с преобладанием гидрофобных областей [26], показано, что для их эффективной иммобилизации необходима комбинация как гидрофильных, так и гидрофобных участков матрицы [12]. В других случаях иммобилизация как на гидрофильных стеклянных шариках, так и на гидрофобных не была успешной [21]. Однако это скорее может быть связано с характером поверхности, пористостью матрицы или отсутствием функциональных групп.

Таким образом, показан специфичный характер взаимодействия органических полимерных материалов ОПМ-1, ОПМ-3, ОПМ-4, ОПМ-36 и иммобилизованной бактериальной культуры *Rhodococcus* sp. (табл. 2).

Наличие нижеперечисленных признаков позволяет предполагать формирование биогибридного материала на основе химических матриц и бактериальных клеток:

- 1) присутствие на поверхности волокон активных делящихся бактериальных клеток, что приводит к формированию кластеров;
- 2) активный характер прикрепления клеток к поверхности волокон путем интрузии и/или выделения внеклеточного полимерного матрикса;
- 3) особенности развития и специфичность клеточной морфологии бактериальной культуры на поверхности волокон.

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 09-03-00984, 10-03-01011-а, 07-03-00858-а) и Министерства образования и науки (гранты № 16.740.11.0060, 14.740.11.1057).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мерициди И.А. Техника и технология локализации и ликвидации аварийных разливов нефти и нефтепродуктов. СПб.: НПО "Профессионал", 2008. 824 с.
2. Корженевская Т.Г., Запольнова И.Б., Гусев М.В., Соколов Б.А. Роль микроорганизмов в преобразовании состава нефти и нефтяных биотехнологиях. М.: Геоинформцентр, 2002. 76 с.
3. Национальный Исследовательский Совет США / National Research Council (URL: <http://dels.nas.edu> 24.04.2011).
4. Калужный С.В. Биотехнология защиты окружающей среды: единство биокаталитических и инженерных подходов // Изв. РАН. Сер. хим. 2001. № 10. С. 1735—1742.
5. Yakimov M.M., Timmis K.N., Golyshin P.N. Obligate oil-degrading marine bacteria // Current Opinion in Biotechnology. 2007. Vol. 18(3). P. 257—266.

6. Robbins J.A., Levy R. A review of the microbiological degradation of fuel // Directory of microbicides for the protection of materials. Part One. Vol. 5. P. 177—201.
7. Nikolopoulou M., Kalogerakis N. Biostimulation strategies for enhanced bioremediation of marine oil spills chronic pollution // Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology / Eds. N.T. Kenneth, T. McGinity et al. 2010. Part 24. P. 2521—2529.
8. Martinkova L., Uhnakova B., Patek M., Nesvera J., Kren V. Biodegradation potential of the genus *Rhodococcus* // Environment International. 2009. Vol. 35(1). P. 162—177.
9. Larkin M.J., Kulakov L.A., Allen Ch.Cr. Biodegradation and *Rhodococcus* — masters of catabolic versatility // Current Opinion in Biotechnology. 2005. Vol. 16. P. 282—290.

10. Chih Wen Liu, Hwai Shen Liu. *Rhodococcus erythropolis* strain NTU-1 efficiently degrades and traps diesel and crude oil in batch and fed-batch bioreactors // *Process Biochemistry*. 2011. Vol. 46. P. 202—209.
11. Carla C.C.R. de Carvalho, Wick L.Y., Heipieper H.Y. Cell wall adaptations of planktonic and biofilm *Rhodococcus erythropolis* cells to growth on C5 to C16 n-alkane // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 2009. Vol. 82. P. 311—320.
12. Podorozhko E. A., Lozinsky V.I., Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivorutchko A.B., Philp J.C., Cunningham C.J. Hydrophobised sawdust as a carrier for immobilisation of the hydrocarbon-oxidizing bacterium *Rhodococcus ruber* // *Bioresource Technology*. 2008. Vol. 99. P. 2001—2008.
13. Лейкин Ю.А., Черкасова Т.А., Смагина Н.А. Саморегенерирующиеся сорбенты для очистки воды от нефтяных углеводородов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9(1). С. 104—117.
14. Dedov A.G., Omarova E.O., Nekrasova V.V., Dolnikova G.A., Idiatulov R.K., Lobakova E.S. Biohybrid materials formed of polymer matrixes and bacteria // Second international conference on multifunctional, hybrid and nanomaterials. Strasbourg, 2011. CD.
15. Wei Q.F., Mather R.R., Fotheringham A.F., Yang R.D. Evaluation of nonwoven polypropylene oil sorbents in marine oil-spill recovery // *Marine Pollution Bulletin*. 2003. Vol. 46. P. 780—783.
16. Бузник В.М., Харитонов А.П., Ксенофонтов М.А., Островская Л.Е., Некрасова В.В., Омарова Е.О., Перевертайло Н.Г., Дедов А.Г. Новые полимерные материалы для сорбции нефтепродуктов // Мат-лы II Междунар. конф. “Наноявления при разработке месторождений углеводородного сырья: от наноминералогии и нанохимии к нанотехнологиям”, Москва, 21—22 октября 2010 г. М., 2010. С. 411—414.
17. Агеев С.В., Ивлиев С.А., Киселева А.С., Тонилин Н.Г. Сорбент для очистки поверхностей от нефти и нефтепродуктов и способ очистки с использованием сорбента. Патент РФ № 2197321, 2001.
18. Wei Q.F., Mather R.R., Fotheringham A.F. Oil removal from used sorbents using a biosurfactant // *Bioresource technology*. 2005. Vol. 96(3). P. 331—334.
19. Лейкин Ю.А., Черкасова Т.А., Смагина Н.А. Саморегенерирующиеся сорбенты для очистки воды от нефтяных углеводородов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т. 8(4). С. 585—599.
20. Diaz M.P., Boyd K.G., Grigson S.W.J., Burgess J.G. Biodegradation of crude oil across a wide range of salinities by an extremely halotolerant bacterial consortium MPD-M, immobilized onto polypropylene fibers // *Biotechnology and bioengineering*. 2002. Vol. 79(2). P. 145—153.
21. Paje M.L., Marks P., Couperwhite I. Degradation of benzene by a *Rhodococcus* sp. using immobilized cell systems // *World J. of Microbiol. and Biotechnol.* 1998. Vol. 14. P. 675—680.
22. Uchiyama H., Yagi O., Oguri K., Kokufuta E. Immobilization of trichloroethylene-degrading bacterium *Methylocystis* sp. strain M in different matrices // *J. of Ferment. and Bioengineering*. 1994. Vol. 77. P. 173—174.
23. Роговин З.А. Основы химии и технологии производства химических волокон. Т. 2 // Производство синтетических волокон. М; Л.: Химия, 1965. С. 186—195.
24. Стандарт ASTM F 726-06 “Standard Test Method for Sorbent Performance of Adsorbents”. 2009. 6 с.
25. Evans C.G.T., Herbert D., Tempest D.W. The continuous cultivation of micro-organisms. 2. Construction of a chemostat // *Methods in microbiology*. Vol. 2 / Eds. J.R. Norris, D.W. Ribbons. London; New York: Academic Press. 1970. P. 277—327.
26. Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Ritchkova M.I., Chumakov O.B. Effect of cell lipid composition on the formation of nonspecific antibiotic resistance in alkanotrophic rhodococci // *Microbiology*. 2000. Vol. 69. P. 51—57.

Поступила в редакцию
02.06.11

IMMOBILIZATION OF BACTERIA ONTO POLIMERIC MATRIXES FOR DEGRADATION OF OIL AND PETROLEUM PRODUCTS

E.O. Omarova, E.S. Lobakova, G.A. Dolnikova, V.V. Nekrasova, R.K. Idiatulov, P.B. Kascheeva, N.G. Perevertailo, A.G. Dedov

Organic polymer materials (OPM) having different set of functional groups, the thickness and character of the fiber surface, the density of their packing in the canvas were synthesized. The study of OPM in order to assess possibilities of their use as sorbents for oil spills in water bodies were implemented. Synthesized OPM were used in the process of creation of bio-hybrid materials as matrixes for the immobilization of bacteria of the genus *Rhodococcus* sp. capable of degradation of oil. Presence of actively dividing bacterial cells forming of clusters were shown. Active nature of cell attachment onto polymeric surface due to intrusion and/or excretion of extracellular biopolymeric matrix were detected. The influence of modification of polymer sorbents on bacterial immobilization was shown. Peculiarity of growth and specificity of cell morphology of bacterial culture are marked.

Key words: non-woven polymer materials, oil and petroleum products, bacteria, immobilization, degradation.

Сведения об авторах

Омарова Елена Олеговна — канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-07; e-mail: elenaomarova@mail.ru

Лобакова Елена Сергеевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-07; e-mail: elena.lobakova@rambler.ru

Дольникова Галина Александровна — науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-46.

Некрасова Валерия Вадимовна — канд. хим. наук, доцент кафедры общей и неорганической химии, РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина. Тел.: 8-499-135-84-36; e-mail: 001122_@mail.ru

Идиатулов Рафет Кутузович — зав. сектором, Отдел нетканых материалов, НИИ синтетического волокна с экспериментальным заводом, г. Тверь. Тел.: 84822537683; e-mail: rafet49@mail.ru

Кащеева Полина Борисовна — аспирантка, РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина. Тел.: 8-499-135-84-36; e-mail: polinab@list.ru

Перевертайло Наталья Геннадьевна — канд. хим. наук, инженер, РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина. Тел.: 8-499-135-84-36.

Дедов Алексей Георгиевич — докт. хим. наук, зав. кафедрой, РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина. Тел.: 8-499-135-84-36; e-mail: dedov.a@mail.ru