

УДК 579.222.2: 579.222.4:579.87:579.66

## Иммобилизация клеток штамма *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 как способ повышения эффективности биодеструкции модифицированных полихлорбифенилов

© 2019 Д.О. ЕГОРОВА<sup>1,\*</sup>, М.Г. ПЕРВОВА<sup>2</sup>, Т.И. ГОРБУНОВА<sup>2</sup>, В.А. ДЕМАКОВ<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов, филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, 614081<sup>2</sup>ФГБУН Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, 620990

\*e-mail: daryao@rambler.ru

Поступила в редакцию 10.01.2019 г.

После доработки 11.03.2019 г.

Принята к публикации 15.03.2019 г.

Представлены результаты по разложению смеси гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксипроизводных полихлорированных бифенилов (ПХБ), полученной при химической модификации коммерческой смеси ПХБ марки Совол, штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 в планктонной культуре и при иммобилизации на углеродных носителях. Установлено, что штамм КТ112-7 в планктонной культуре разрушает 73,2% смеси модифицированных ПХБ за 96 ч при начальной концентрации 0,5 г/л, при иммобилизации на активированном угле марки БАУ-А – 59,5%, а при иммобилизации на углеродном волокне Карбопон-В-актив – 95,3% за тот же отрезок времени (начальная концентрация 0,5 г/л). Применение клеток штамма КТ112-7, иммобилизованных на БАУ-А, приводит к снижению производных ПХБ к концу эксперимента в 1,5 раза, а иммобилизованных на Карбопон-В-актив – в 3 раза, а в случае применения планктонной культуры количество соединений в смеси остается неизменным. В практике иммобилизация клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 на углеродных носителях может использоваться при разработке технологий по уничтожению химически модифицированных смесей ПХБ.

*Ключевые слова:* полихлорированные бифенилы, иммобилизация, деструкция, *Rhodococcus*.

**doi:** 10.21519/0234-2758-2019-35-2-58-70

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) являются продуктами химического синтеза, в результате которого образуется смесь конгенов, имеющих от 1 до 10 атомов хлора в структуре бифенила. Так как реакция не селективна, возможно образование 209 конгенов. ПХБ обладают уникальными физико-химическими свойствами, их производили в промышленных масштабах для использования в качестве диэлектрических и гидравлических жидкостей и растворителей. Коммерческие про-

дукты содержали в среднем 40–60 конгенов ПХБ и отличались степенью хлорирования. Наиболее распространенными марками были Арохлор (США), Канехлор (Япония), Делор (Чехословакия), Фенохлор (Франция), Совол (СССР, Россия) [1, 2]. За период с 20-х по 90-е гг XX в. было произведено около 1,5 млн. т ПХБ. Около трети произведенных ПХБ оказались в окружающей среде, в первую очередь в почве и донных отложениях, остальная часть находится в местах

*Список сокращений:* ГХ/МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием; ГХ-ПИД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием; КЖ – культуральная жидкость; ОП – оптическая плотность; ПДК – предельно допустимая концентрация; ПХБ – полихлорированные бифенилы; СОЗ – стойкие органические загрязнители.

складирования или в оборудовании [3, 4]. Следует отметить, что ПХБ обнаружены в объектах окружающей среды не только в районах их производства и использования, но и на территориях, где они не применялись [1–4].

ПХБ, относясь к СОЗ, являются особо опасными для человека и окружающей среды соединениями. Несмотря на то, что свои токсичные свойства для биологических объектов ПХБ проявляют в очень низких концентрациях, показатели предельно допустимой концентрации ПХБ варьируют от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг в разных странах [2]. В России ПХБ отнесены к II классу опасности, а ПДК составляет 0,03–5,0 мг/кг в зависимости от объекта/среды, для которого разработан норматив [5, 6].

Согласно Стокгольмской конвенции 2001 г. [<http://base.garant.ru/12187282>; [http://chm.pops.int/Portals/0/sc10/files/a/stockholm\\_convention\\_text\\_r.pdf](http://chm.pops.int/Portals/0/sc10/files/a/stockholm_convention_text_r.pdf)], ПХБ подлежат полному уничтожению до 2028 г. Россией конвенция была ратифицирована в 2011 г. (ФЗ № 164 от 27.06.2011). Однако, в силу уникальных физико-химических свойств ПХБ, для их уничтожения необходима разработка специальных технологий. В настоящий момент известен ряд методов, сопряженных с высокими энергетическими затратами и экологическими рисками [6]. Термические методы уничтожения ПХБ требуют поддержания высоких температур в зоне реакции (выше 2000 °С) и расхода кислорода атмосферы (4–6 т кислорода на 1 т ПХБ). Электрохимические методы сопряжены с проблемами поиска эффективных материалов для электродов. Плазменные технологии могут применяться для удаления следовых количеств ПХБ с поверхностей оборудования, при этом стоимость очистки очень велика [5].

Поиск оптимальных способов уничтожения ПХБ показал, что одним из путей решения проблемы является сочетание методов химической модификации ПХБ и последующей их биологической трансформации с использованием биодеградативного потенциала аэробных бактерий [7]. Химическая модификация ПХБ осуществляется в рамках реакций восстановительного или заместительного дехлорирования. В результате восстановительного дехлорирования образуются конгенеры ПХБ с меньшим содержанием атомов хлора в молекуле. В реакциях заместительного дехлорирования образуются другие классы производных ПХБ, в зависимости от использованных реагентов [5].

Анализ исследований по биологической трансформации ПХБ показал, что наиболее активными деструкторами являются бактерии.

Трансформация может протекать как в анаэробных, так и в аэробных условиях, при этом полная минерализация ПХБ наблюдается только в аэробном процессе [2, 4, 8]. Наиболее известными деструкторами ПХБ являются представители родов *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Arthrobacter* и *Rhodococcus* [2]. Большинство описанных штаммов-деструкторов трансформируют моно- трихлорированные бифенилы [8]. Повышение числа атомов хлора в молекуле приводит к резкому снижению биодоступности ПХБ. Способность разлагать конгенеры ПХБ, содержащие от 4 до 6 заместителей, описана для штаммов *Burkholderia xenovorans* LB400, *Rhodococcus jostii* RHA1, *Alcaligenes eutrophus* H850 и *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 [3, 4, 9]. Стоит отметить, что в коммерческих смесях ПХБ значительную долю составляют высокохлорированные бифенилы. Таким образом, является актуальным вопрос о повышении биодоступности смесей ПХБ для их уничтожения биологическими объектами.

Введение новых заместителей в молекулу ПХБ в ряде случаев приводит к более эффективному разложению образовавшихся соединений бактериальными штаммами. Рядом исследований показано, что штаммы *Burkholderia xenovorans* LB400, *Pseudomonas testosteroni* B-356, *Sphingomonas* sp. N-9 разлагают гидроксипроизводные ПХБ [10–12]. Так штамм *Burkholderia xenovorans* LB400 проявляет деградативную активность в отношении гидрокси-монохлорбифенилов и гидрокси-дихлорбифенилов, но не в отношении гидрокси-трихлорбифенилов [12]. Штамм *Sphingomonas* sp. N-9 разлагает 23–100% моногидрокси-моно-тетрахлорированных бифенилов, при повышении степени хлорирования молекулы гидроксибифенила до 5–6 атомов эффективность деструкции снижается до 0–11% [10]. При этом установлено, что повышение концентрации гидрокси-монохлорбифенила до 30 мг/л оказывает ингибирующий эффект на деградативную активность данного штамма [10]. Используемый в настоящем исследовании штамм *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 осуществляет разложение 100% монополиэтиленгликоксипроизводных ПХБ, 90–95% полихлорбифениолов и 85–100% смеси гидроксипроизводных три-пентахлорированных бифенилов и аминоэтоксипроизводных ПХБ [7, 13].

Повышение эффективности биологической трансформации органических соединений может быть обеспечено путем иммобилизации клеток бактерий на инертном носителе [2, 14]. Одним

из наиболее простых методов является адсорбция клеток бактерий на поверхности носителя. В качестве таких сорбентов могут быть использованы материалы на основе активированного угля [2, 14–17]. Активированный уголь, а также углеродные волокнистые адсорбенты устойчивы к химическому и биологическому воздействию, обладают высокой пористостью и большой удельной поверхностью. При этом они характеризуются высокой проницаемостью и инертностью для субстратов. Выдвинуто предположение, что при иммобилизации происходит сближение молекулы субстрата и клетки бактерии, что облегчает начальные этапы деструкции [14, 18]. Также адсорбция на инертном носителе позволяет штаммам-деструкторам длительное время находиться в ПХБ-загрязненных объектах окружающей среды (почвах, донных отложениях, воде) [18]. Иммобилизованные клетки бактерий могут быть использованы как элемент гетерогенной среды в технологиях уничтожения смесей ПХБ, находящихся в местах складирования, а также как самостоятельный препарат для использования в технологиях биоремедиации территорий, загрязненных ПХБ.

Цель данной работы – определить эффективность трансформации смеси гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксифторированных бифенилов клетками штамма *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7, иммобилизованными на углеродных носителях.

## УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

### Бактериальный деструктор

Штамм *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 (ВКМ Ас-2623D) был выделен из техногенно-минеральных образований предприятия БКРУ1 (г. Березники, Пермский край) и обладал способностью разлагать широкий спектр ароматических и хлорароматических соединений, в том числе хлорированных бифенилов [9, 19].

### Среда культивирования

Клетки штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 выращивали в минеральной среде К1 следующего состава, г/л:  $K_2HPO_4$  – 3,18;  $NaH_2PO_4$  – 0,35;  $(NH_4)_2SO_4$  – 0,5;  $Ca(NO_3)_2$  – 0,01;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 1,5; дополненной 1 мл/л раствором микроэлементов, содержащим, г/л: EDTA – 2,50;  $ZnSO_4 \cdot 2H_2O$  – 10,95;  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  – 5;  $MnSO_4 \cdot 2H_2O$  – 1,54;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  – 0,39;  $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  – 0,24;  $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$  – 0,17. pH среды 7,3 (ЗАО «НПО Экрос» Россия).

## Получение планктонной культуры штамма

Планктонную культуру выращивали до середины экспоненциальной фазы (48 ч) в колбах Эрленмейера на 250 мл в 100 мл жидкой среды К1 на круговой качалке Environmental Shaker-Incubator ES-20/60 (BioSan, Латвия) со скоростью 120 об/мин и при 28 °С. В качестве источника углерода вносили бифенил до конечной концентрации 1 г/л. Бифенил использовали для наращивания биомассы, так как он является биодоступным субстратом, активирующим ПХБ-деградирующие ферментативные системы. Для дальнейших экспериментов использовали отмытую от бифенила культуру штамма с  $OP = 2,0$  при  $\lambda = 600$  нм.

## Носители для адсорбционной иммобилизации клеток

В качестве носителей использовали углеродные сорбенты: уголь активированный березовый дробленный марки БАУ-А и активированное вискозное углеродное волокно марки Карбопон-В-актив (РУП «Светлогорское химволокно», Беларусь). Общий объем пор адсорбента БАУ-А составлял 1,65–1,80 см<sup>3</sup>/г, Карбопон-В-актив – 1,2–1,4 см<sup>3</sup>/г. Подробные характеристики сорбентов представлены в работах [15, 16].

## Адсорбционная иммобилизация клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7

Иммобилизацию бактерий проводили путем инкубации клеток *R. wratislaviensis* КТ112-7 ( $OP_{600}=2,0$ , с активированной ПХБ-деградирующей ферментативной системой) с сорбентами в течение 35 мин на круговой качалке Environmental Shaker-Incubator ES-20/60 (BioSan) со скоростью 120 об/мин. Для отделения сорбентов использовали фильтр «синяя лента». Повторную отмывку производили минеральной средой К1. Количество сорбированных клеток определяли путем расчета разницы оптической плотности культуральной среды ( $OP_{600}$ ) до сорбции и после отделения сорбента. Установлено, что 1 ед.  $OP_{600}$  на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini (Shimadzu, Япония) соответствует 0,432 мг сухих клеток в 1 мл среды. Таким образом, сорбционную емкость носителя по отношению к клеткам штамма ( $CE_{сорб}$ ) рассчитывали по формуле:

$$CE_{сорб} = (OP_{600,нач} - OP_{600,кон}) \cdot 0,432 \cdot V_{КС} / m_{сорб},$$

где  $OP_{600,нач}$  – оптическая плотность КЖ до иммобилизации,  $OP_{600,кон}$  – оптическая плотность КЖ после иммобилизации,  $V_{КС}$  – объем культуральной

среды, использованный для иммобилизации (мл),  $m_{\text{сорб}}$  – масса сорбента (г), 0,432 – коэффициент пересчета на массу сухих клеток в 1 мл среды.  $CE_{\text{сорб}}$  рассчитывали в мг веса сухих клеток на 1 г сорбента.

#### Адсорбционная стабильность клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7

Активированный уголь БАУ-А (10 г) и углеродное волокно Карбопон-В-актив (10 г) с иммобилизованными клетками штамма КТ112-7 помещали в колбы Эрленмейера, содержащие 100 мл жидкой среды К1, и перемешивали в течение 96 ч на круговой качалке. Каждые 24 ч производили отбор среды с последующим ее анализом при длине волны 600 нм на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini (Shimadzu).

#### Смесь модифицированных полихлорированных бифенилов

Смесь модифицированных ПХБ была синтезирована в результате химической функционализации коммерческой смеси ПХБ торговой марки Совол метоксидом натрия в среде диметилсульфоксида и метанола [20]. В составе смеси заре-

гистрированы гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксипроизводные три-гексахлорированных бифенилов (табл. 1, рис. 1).

#### Адсорбция смеси модифицированных ПХБ на углеродных носителях

Адсорбцию проводили при 28 °С в колбах Эрленмейера (250 мл) в 100 мл жидкой среды К1, содержащей смесь модифицированных ПХБ в концентрации 0,5 г/л и углеродный носитель (10 г), на круговой качалке Environmental Shaker-Incubator ES-20/60 (BioSan) со скоростью 120 об/мин в течение 96 ч. Для мониторинга динамики адсорбции каждые 24 ч анализировали концентрацию модифицированных ПХБ на носителе и в среде. Для этого носитель отделяли от среды центрифугированием на центрифуге ЗК30 (Sartorius, Германия). Экстракцию модифицированных ПХБ из среды и из углеродного носителя и их количественное определение в экстрактах осуществляли как описано ниже и анализировали.

Сорбционную емкость носителя по отношению к ПХБ ( $CE_{\text{ПХБ}}$ ) рассчитывали, как отношение количества ПХБ, сорбированного на носителе, к массе носителя (мг/г).

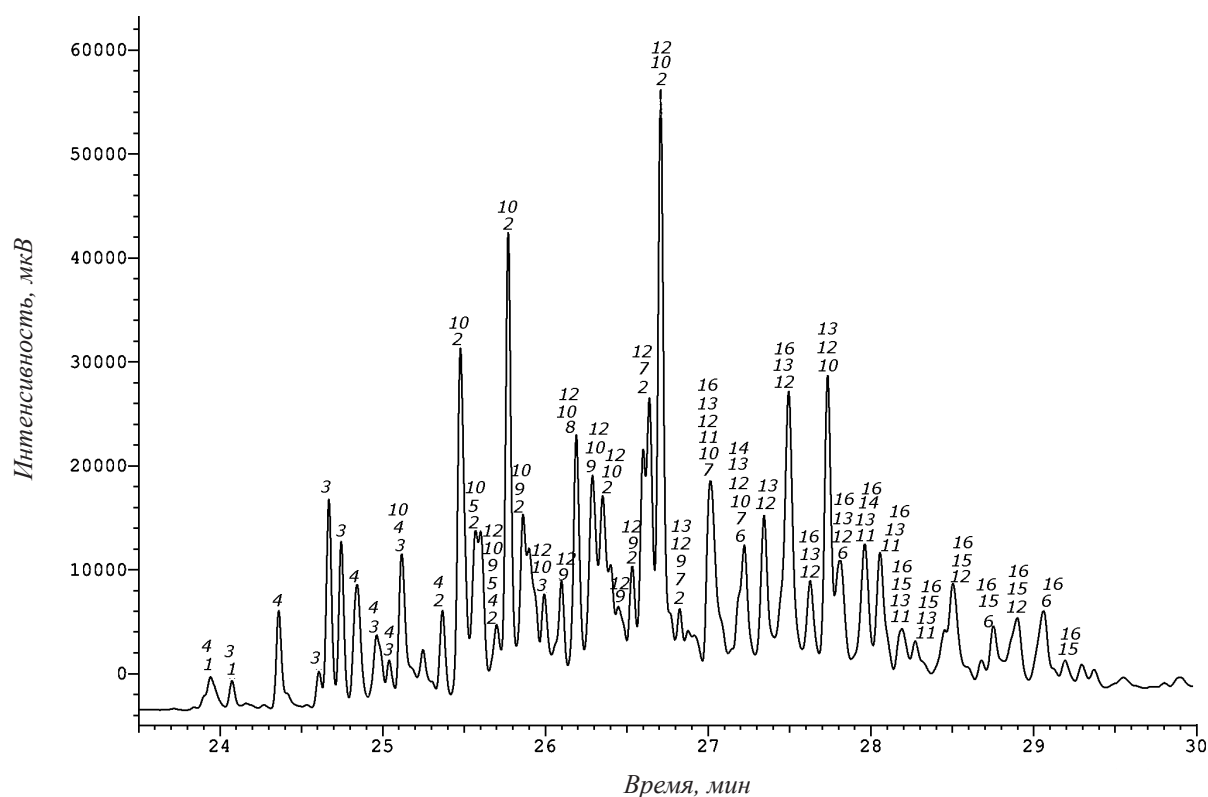


Рис. 1. Хроматограмма исходной смеси модифицированных ПХБ. Шифры, соответствующие структурам соединений, указаны в табл. 1

Fig. 1. Chromatogram of the initial mixture of modified PCBs. Ciphers and structures of compounds are listed in the Table 1



**Качественный состав смеси модифицированных ПХБ****The qualitative composition of the mixture of modified polychlorinated biphenyls**

Исходные ПХБ	Структура соединений	Шифр продукта	Число изомеров
C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>3</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>2</sub> (OCH <sub>3</sub> )	1	2
C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>4</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2	11
	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>3</sub> (OCH <sub>3</sub> )	3	8
	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>3</sub> (OH)	4	8
	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> (OCH <sub>3</sub> )(OH)	5	3
C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>5</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	6	4
	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>3</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7	4
	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>4</sub> (OCH <sub>3</sub> )	8	1
	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>3</sub> (OH) <sub>2</sub>	9	7
	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>4</sub> (OH)	10	15
	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH)	11	5
	C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>3</sub> (OCH <sub>3</sub> )(OH)	12	20
	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>6</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub>	13
C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>5</sub> (OH)		14	2
C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>3</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH)		15	6
C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>4</sub> (OCH <sub>3</sub> )(OH)		16	13

**Адсорбция смеси модифицированных ПХБ на бактериальных клетках**

Для определения адсорбции смеси модифицированных ПХБ на поверхности клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 использовали бактериальную культуру в среде К1, предварительно инактивированную прогревом при 100 °С в течение 40 мин. Инкубацию проводили в течение 96 ч при 28 °С в колбах Эрленмейера на 250 мл (100 мл инактивированной культуры, ОП<sub>600</sub> = 2,0 до инактивации), содержащих смесь модифицированных ПХБ в концентрации 0,5 г/л. Каждые 24 ч производили отбор образцов для анализа, бактериальную культуру отделяли центрифугированием (центрифуга ЗК30, Sartorius) 12 тыс. об/мин в течение 15 мин, экстракцию модифицированных ПХБ, сорбированных на клетках и оставшихся в среде культивирования, осуществляли как описано ниже и анализировали.

Сорбционную емкость клеток (СЕ<sub>кл</sub>) по отношению к ПХБ рассчитывали, как отношение количества ПХБ, сорбированного на биомассе (на клетках) к массе клеток (мг/г).

**Бактериальная деструкция модифицированных ПХБ**

Деструкцию смеси модифицированных ПХБ с использованием планктонной культуры и иммобилизованных клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 проводили в течение 4 сут (96 ч) в мине-

ральной среде К1 в колбах Эрленмейера (100 мл) в 50 мл среды с внесением смеси модифицированных ПХБ до конечной концентрации 0,5 г/л. Масса планктонной культуры штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 составила в пересчете на сухую массу клеток 43,2 мг/50 мл среды. Количество вносимого сорбента с иммобилизованными клетками рассчитывали исходя из сорбционной емкости сорбента так, чтобы количество иммобилизованных клеток было аналогично количеству клеток в планктонной культуре. Таким образом, количество БАУ-А с иммобилизованными клетками составило 7,15 г/50 мл среды, количество Карбопон-В-актив с иммобилизованными клетками – 6,90 г/50 мл среды.

В качестве контроля использовали сорбенты, не содержащие клетки штамма-деструктора (БАУ-А – 7,15 г/50 мл среды, Карбопон-В-актив – 6,9 г/50 мл среды). Деструкцию проводили в условиях аэрирования путем перемешивания культуральной среды на круговой качалке Environmental Shaker-Incubator ES-20/60 (BioSan) со скоростью 120 об/мин при 28 °С. Отбор образцов для анализа осуществляли через каждые 24 ч эксперимента. Реакцию останавливали замораживанием.

**Идентификация и количественная оценка модифицированных ПХБ после биодеструкции**

Количественное и качественное определение модифицированных ПХБ после деструкции планктонной культурой и иммобилизованными

клетками штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7, а также в контрольных образцах с сорбентами без бактериальной культуры, проводили методами ГХ/МС и ГХ-ПИД в гексановых экстрактах.

Содержимое колбы (планктонная культура в среде К1; среда К1 с сорбентом с иммобилизованными клетками; среда К1 с сорбентом без клеток) помещали в аппарат Сокслета и экстрагировали смесью гексан–ацетон в объемном соотношении 50:70 в течение 3 ч. После экстракции колбу с экстрактом охлаждали до комнатной температуры. Охлажденный экстракт сливали в делительную воронку, приливали 150 мл дистиллированной воды, встряхивали 2 раза по 2 мин. После разделения фаз водный раствор ацетона удаляли, а гексановый экстракт сушили над безводным сульфатом натрия в течение 15–20 мин. Высушенный экстракт помещали в грушевидную колбу и проводили отгонку гексана с последующим концентрированием до объема 3 мл. Полученный экстракт переливали в делительную воронку на 25 мл, в колбу добавляли 2 мл гексана, смывали остатки раствора и присоединяли к экстракту. Конечный объем экстракта составил 5 мл. Экстракт промывали последовательно серной кислотой и дистиллированной водой, сушили над безводным сульфатом натрия и упаривали досуха. Для дальнейшего анализа методами ГХ-ПИД и ГХ/МС сухой экстракт разводили в 0,2 мл ацетона.

Идентификацию модифицированных ПХБ проводили методом ГХ/МС, как описано [20]: газовый хроматограф-масс-спектрометр Agilent GC 7890A MSD 5975C inert XL EI/CI (Agilent Technologies, США) с кварцевой капиллярной колонкой HP-5MS (длина 30 м, диаметром 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм), а также квадрупольного масс-спектрометрического детектора. Условия хроматографирования были следующие: газ-носитель – гелий, ввод образца в колонку с делением потока (режим split 1:50); начальная температура колонки 40 °С (изотерма 3 мин), повышение температуры 10 °С/мин до конечной температуры 290 °С (изотерма 40 мин); температура испарителя 250 °С, переходной камеры – 280 °С, масс-спектрометрического источника – 230 °С, квадруполь – 250 °С; сканирование осуществляли по полному ионному току в диапазоне масс 20–1000 Да, в режиме электронной ионизации (70 эВ).

Количественную оценку проводили в условиях ГХ-ПИД: газовый хроматограф Shimadzu GC 2010 с пламенно-ионизационным детектором и кварцевой капиллярной колонкой ZB-5 (длина 30 м, диаметр 0,25 мм), толщина пленки непод-

вижной фазы составляла 0,25 мкм (Shimadzu). Начальная температура колонки составила 40 °С (3 мин) с последующим повышением температуры 10°/мин до конечной температуры 280 °С (изотерма 15 мин). Температура испарителя – 250 °С, детектора – 300 °С.

Расчет содержания модифицированных ПХБ в каждом исследуемом образце проводили методом внутренней нормализации, рассчитывая вклад отдельных соединений в суммарную площадь пиков. На основании полученных расчетных площадей пиков оценивали содержание исходных модифицированных ПХБ после процесса биодеструкции.

Величину деструкции  $D$  (%) оценивали, как

$$D = 100 - (C_{\text{exp}} \times 100 / C_{\text{нач}}),$$

где  $C_{\text{нач}}$  и  $C_{\text{exp}}$  – площадь пика отдельного конгенера модифицированного ПХБ в начале эксперимента (0 ч), мкВ·с и суммарная площадь всех пиков исследуемой смеси в экспериментальной точке (24 ч, 48, 72 и 96 ч), мкВ·с.

### Статистическая обработка

Все эксперименты выполнялись в трех независимых сериях. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Экспериментальная ошибка не превышала 5%.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Сорбционная емкость углеродных носителей по отношению к клеткам штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7

В результате проведенных исследований установлено, что сорбционная емкость активированного угля БАУ-А в отношении клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 составляет  $6,04 \pm 0,01$  мг клеток/г БАУ-А, а сорбционная емкость активированного вискозного углеродного волокна Карбопон-В-актив –  $6,26 \pm 0,02$  мг клеток/г Карбопон-В-актив.

Одним из факторов, влияющих на сорбционную емкость, является общий объем пор носителя, при этом важную роль играет доля макропор, по своему размеру превышающих размер бактериальной клетки [21]. Использованный в эксперименте активированный уголь БАУ-А имеет общий объем пор  $1,65–1,80$  см<sup>3</sup>/г, а волокно Карбопон-В-актив –  $1,2–1,4$  см<sup>3</sup>/г. Таким образом, общая площадь доступной для адсорбции

клеток поверхности между использованными носителями различается в 1,3 раза. Однако сорбционная емкость БАУ-А в отношении клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 оказалась ниже, чем сорбционная емкость у Карбопон-В-актив, а соотношение данных показателей составило 0,96. Известно, что адсорбция клеток штамма *Rhodococcus ruber* gt1 выше на углеродном волокне Карбопон-В-актив (~20 мг/г), чем на активированном угле БАУ-А (~14,5 мг/г) [17]. Обратное соотношение описано для адсорбции клеток штамма *Rhodococcus rhodochrous* 4-1 [15, 16]. При иммобилизации клеток *R. rhodochrous* 4-1 сорбционная емкость БАУ-А составила 24,278 мг/г, а аналогичный показатель при использовании Карбопон-В-актив – 23,370 мг/г. По всей видимости, уровень сорбционной емкости углеродных сорбентов зависит не только от физико-химических характеристик сорбента, но и от индивидуальных особенностей иммобилизованных клеток бактериальных штаммов.

Анализ адсорбционной стабильности комплексов клетки штамма *R. wratislaviensis* (КТ112-7–БАУ-А и КТ112-7–Карбопон-В-актив) показал, что в течение 96 ч не происходит вымывания клеток в минеральную среду. Величина оптической плотности минеральной среды не изменялась и составляла  $OD_{600}=0,0053\pm 0,0003$  ед. Вероятно, в результате взаимодействия гидрофобных поверхностей углеродных носителей и клеток штамма КТ112-7 сформировались биопленки, способствующие эффективному удержанию иммобилизованных клеток на использованных в данном исследовании сорбентах. Явление образования биопленок на углеродных носителях описано для штаммов *Rhodococcus ruber* gt1 и *Pseudomonas fluorescens* C2 [16].

Таким образом, оба углеродных сорбента (БАУ-А и Карбопон-В-актив) могут быть эффективно использованы для иммобилизации клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7.

### Сорбционная емкость углеродных носителей по отношению к смеси модифицированных ПХБ

Установлено, что через 24 ч эксперимента на БАУ-А сорбируется  $0,432\pm 0,005$  мг модифицированных ПХБ/г сорбента, а на Карбопон-В-актив –  $0,123\pm 0,001$  мг модифицированных ПХБ/г сорбента (рис. 2).

Сорбционная емкость БАУ-А по отношению к смеси модифицированных ПХБ оказалась в 3,5 раза выше, чем у второго использованного сорбента. При этом величина сорбированной смеси

составила в случае использования БАУ-А – 0,08% от исходного количества смеси модифицированных ПХБ, а в случае Карбопон-В-актив – 0,02%. Полученные величины свидетельствуют о низком уровне связывания модифицированных ПХБ с данными углеродными сорбентами. Согласно работам [22–24] углеродные сорбенты обладают высокой сорбционной емкостью к немодифицированным ПХБ. Так, внесение гранулированного активированного угля торговых марок Picahydro S21-W, Picabiol 2 и Filtrasorb 400 в минеральную среду, содержащую 40 мкг/мл Арохлора 1242 (смесь ПХБ), приводило к сорбции 98–99% ПХБ за 300 ч [24]. Уровень сорбционной емкости угля, полученного при пиролизе бамбука, а также гранулированного и порошкообразного активированного угля, внесенного в ПХБ-загрязненную почву, также на 2-3 порядка превышал показатели, полученные в настоящем исследовании [22, 23]. Данных по адсорбции модифицированных ПХБ углеродными носителями в минеральной или почвенной среде не обнаружено вследствие уникальности используемой смеси модифицированных ПХБ.

В ходе эксперимента происходила десорбция субстрата (см. рис. 2). Было установлено, что через 96 ч в связанном состоянии с БАУ-А находится  $0,171\pm 0,003$  мг модифицированных ПХБ/г сорбента (0,03% от начальной концентрации смеси модифицированных ПХБ), а с Карбопон-В-актив –  $0,20\pm 0,05$  мкг модифицированных ПХБ/г сорбента ( $4\cdot 10^{-5}$  % от начальной концентрации

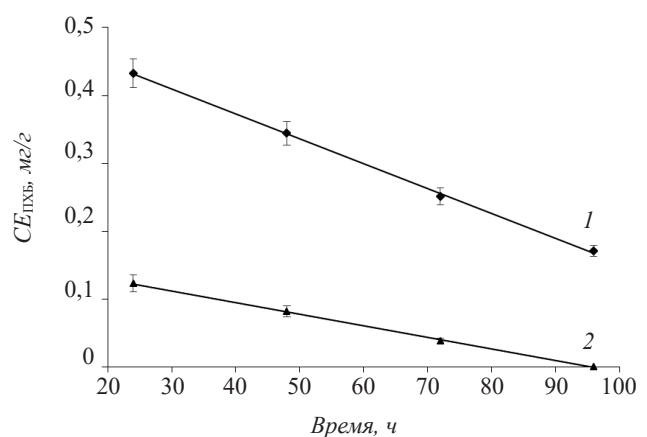


Рис. 2. Адсорбция смеси модифицированных ПХБ на углеродных носителях: 1 – БАУ-А, 2 – Карбопон-В-актив. По оси ординат – сорбционная емкость, мг ПХБ/г сорбента

Fig. 2. Adsorption of a mixture of modified PCBs on carbon carriers: 1 – BAU-A, 2 – KarboPON-B-active. Ordinate axis – sorption capacity, mg PCB/g sorbent

смеси модифицированных ПХБ). Гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксизамещенные ПХБ обладают большей гидрофильностью, чем исходные немодифицированные ПХБ. Вследствие этого связи, образующиеся при взаимодействии с гидрофобной поверхностью углеродных носителей, оказываются более слабыми, чем в случае взаимодействия немодифицированных ПХБ и углеродных сорбентов. Данное явление может обуславливать процесс десорбции смеси модифицированных ПХБ с БАУ-А и Карбопон-В-актив при нахождении в минеральной среде. Ранее, в работе Васильевой с коллегами [22] было показано, что при длительном эксперименте количество ПХБ, связанных с гранулированным и порошкообразным углеродом, снижается с 54,7 до 32% и с 50 до 27% соответственно. Построение аппроксимирующей кривой показало, что динамика десорбции носит линейный характер. Достоверность линейной аппроксимации составила 0,9992 для процесса на БАУ-А и 0,9995 для процесса на Карбопон-В-актив. При применении экспоненциальной, степенной и логарифмической аппроксимации величина достоверности для десорбции на БАУ-А составила 0,987, 0,906 и 0,966 соответственно, а для десорбции на Карбопон-В-актив – 0,747, 0,581 и 0,965 соответственно. Таким образом, процесс десорбции модифицированных ПХБ с использованных сорбентов наиболее вероятно описывается линейной зависимостью. Полученные данные позволяют предположить, что при более длительном времени эксперимента модифицированные ПХБ будут полностью десорбированы с БАУ-А и Карбопон-В-актив, и в случае их применения в биотехнологиях разложения ПХБ не возникнет проблемы утилизации ПХБ-загрязненного носителя.

#### Сорбционная емкость клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 к смеси модифицированных ПХБ

В работе Ким с коллегами показано, что при культивировании инактивированных клеток штаммов рода *Bacillus* в синтетической пептонной среде, содержащей коммерческую смесь ПХБ марки Сокол, в течение 10 дней  $CE_{кл}$  составила 2,0–13,6 мкг ПХБ/мг клеток [25]. В настоящем исследовании установлено, что инактивированные клетки штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 не сорбируют на своей поверхности смесь модифицированных ПХБ в достоверно значимых количествах.  $CE_{кл}$  к используемой смеси колебалась в пределах 0,008–0,011 мкг модифицированных ПХБ/мг клеток и не зависела

от продолжительности эксперимента. Так как количество сорбированных на клетках модифицированных ПХБ не превышает 0,001% от исходной концентрации, то данная величина в расчетах эффективности деструкции не учитывалась.

#### Деструкция гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксизамещенных ПХБ иммобилизованными и планктонными клетками штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7

Изучена способность иммобилизованных и планктонных клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 разлагать смесь гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксизамещенных ПХБ в концентрации 0,5 г/л (рис. 3, рис. 4).

Анализ динамики разложения смеси модифицированных ПХБ показал, что при трансформации субстрата планктонной культурой клеток наиболее активно процесс протекает в первые сутки (61% деструкции к 24 ч) с последующим выходом на «плато» (73,2% к 96 ч) (см. рис. 3).

Аналогичная динамика прослеживается в случае иммобилизации клеток штамма КТ112-7 на Карбопон-В-актив, однако эффективность трансформации смеси модифицированных ПХБ выше, и достигает 95,3% (см. рис. 3).

При иммобилизации клеток штамма КТ112-7 на активированном угле БАУ-А общая деструкция через 96 ч составила 59,5%, что существенно ниже, чем при применении в качестве сорбента

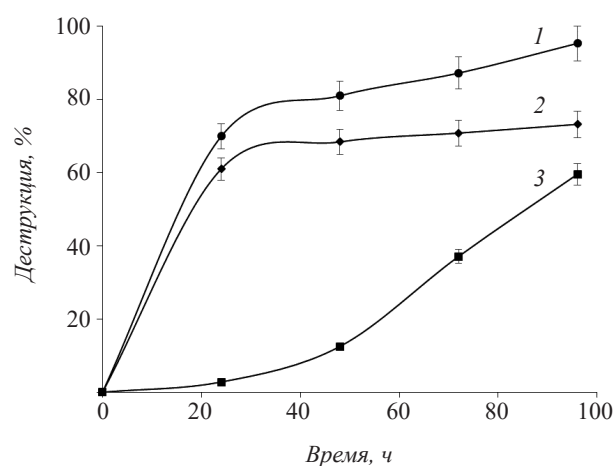
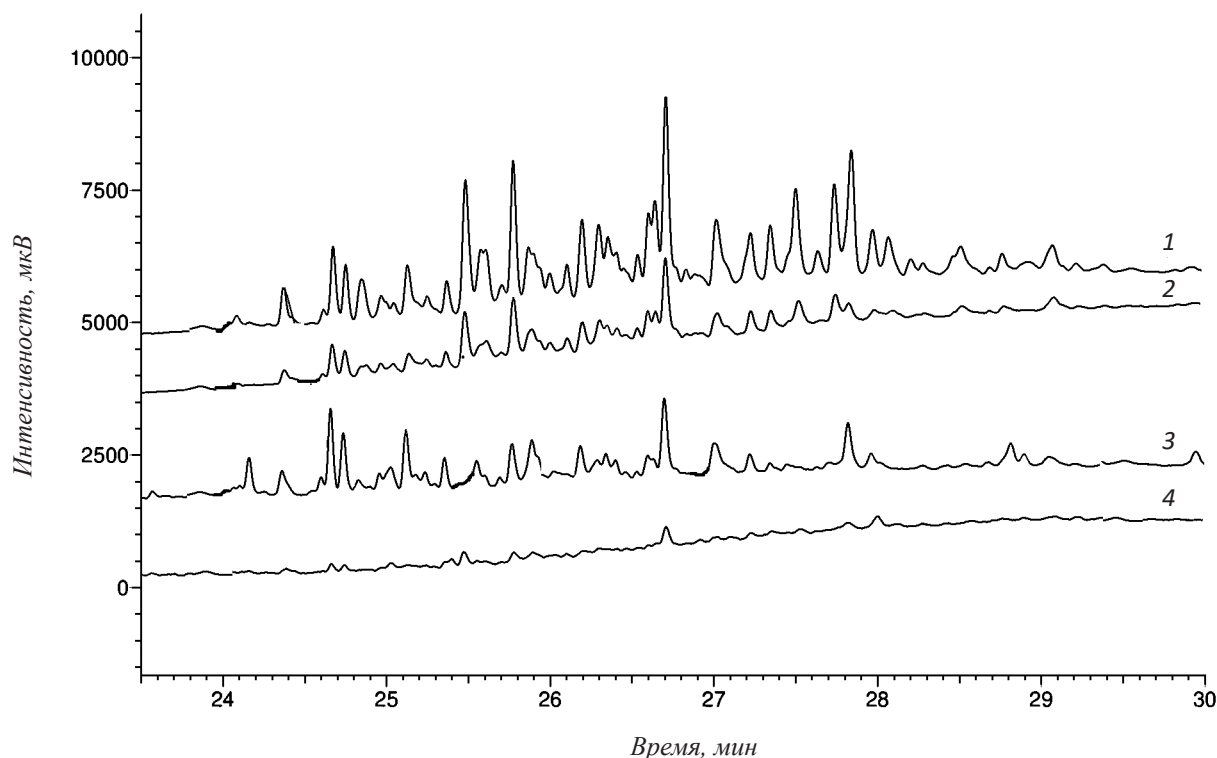


Рис. 3. Деструкция смеси модифицированных ПХБ штаммом *R. wratislaviensis* КТ112-7: 1 – клетки, иммобилизованные на Карбопон-В-актив; 2 – планктонная культура; 3 – клетки, иммобилизованные на БАУ-А

Fig. 3. Destruction of a mixture of modified PCBs by the *R. wratislaviensis* strain КТ112-7: 1 – cells immobilized on Carboпон-В-active; 2 – plankton culture; 3 – cells immobilized on BAU-A





**Рис. 4.** Хроматограмма гексановых экстрактов исходной (1) смеси модифицированных ПХБ и смеси модифицированных ПХБ после 96-часового разложения штаммом *R. wratislaviensis* КТ112-7 с помощью планктонных клеток (2), иммобилизованных клеток на БАУ-А (3), иммобилизованных клеток на Карбопон-В-актив (4)

**Fig. 4.** Chromatograms of hexane extracts of the original (1) mixture of modified PCBs and mixtures of modified PCBs after decomposition by *R. wratislaviensis* strain КТ112-7 for 96 h using planktonic cells (2), immobilized cells on BAU-A (3), immobilized cells on Carboпон -B-active (4)

углеродного волокна Карбопон-В-актив. Достоверность линейной аппроксимации процесса деструкции смеси модифицированных ПХБ клетками штамма КТ112-7, иммобилизованными на БАУ-А, составила 0,912, что позволяет предположить линейный характер данного процесса. Контрольные варианты, в которых использовали носитель без иммобилизованных клеток, не отличались по количественным показателям изменения концентрации смеси модифицированных ПХБ в среде от экспериментов по определению сорбционной емкости БАУ-А и Карбопон-В-актив к исследуемой смеси модифицированных ПХБ. При этом сорбционная емкость ( $SE_{ПХБ}$ ) у активированного угля к модифицированным ПХБ была выше, чем у углеродного волокна. Данный факт, вероятно, оказал влияние на эффективность деструкции исследуемой смеси штаммом КТ112-7, несмотря на то, что количество сорбированной на носителях смеси модифицированных ПХБ было незначительным (не превышало 0,08% от начальной концентрации для БАУ-А и 0,02% от начальной концентрации для Карбопон-В-актив).

Известно, что внесение в среду активированного угля приводит к уменьшению уровня токсичности и биоаккумуляции ПХБ для ряда организмов [26, 27]. Снижение токсичности субстрата может приводить к повышению деградативной активности биодеструкторов в отношении ПХБ. Вероятно, данный эффект наблюдался в случае применения иммобилизации клеток штамма КТ112-7 на углеродном волокне.

Внесение в ПХБ-содержащую среду гранулированного активированного угля с бактериальной биопленкой оказывает влияние на процесс адсорбции отдельных конгенов ПХБ, снижая сорбционную емкость носителя в отношении высокохлорированных ПХБ [28]. Можно предположить, что подобный эффект наблюдался и в случае применения БАУ-А с иммобилизованными клетками штамма КТ112-7 в отношении модифицированных ПХБ. Тогда соотношение отдельных компонентов в смеси в свободном состоянии изменялось так, что в среде оставались наиболее замещенные соединения. Известно, что деградативная активность бактериальных штаммов снижается с увеличением

степени хлорирования бифенила [3, 8]. Сочетание данных явлений приводило к снижению уровня деградации смеси модифицированных ПХБ клетками штамма КТ112-7, иммобилизованными на БАУ-А.

Анализ деградативной активности планктонных и иммобилизованных клеток штамма

КТ112-7 в отношении отдельных компонентов смеси модифицированных ПХБ был проведен только для значений, полученных в конце эксперимента (96 ч инкубации) (рис. 4, табл. 2).

Используемая смесь является сложной по своему составу. В ней представлено 16 типов

Таблица 2

**Разложение смеси модифицированных ПХБ (0,5 г/л) штаммом *R. wratislaviensis* КТ112-7 за 96 ч**

**Degradation of the modified PCB(0,5 g/L) by the *R. wratislaviensis* strain КТ112-7 for 4 days**

Шифр соединения*	Деструкция, %		
	Планктонные клетки	Иммобилизованные клетки на БАУ-А	Иммобилизованные клетки на Карбопон-В-актив
1	81,4±0,1	58,9±0,1	100
4	54,5±0,2	58,0±0,2	79,7±0,3
3	58,5±0,1	60,7±0,2	100
3	60,5±0,2	51,3±0,1	92,1±0,2
3	53,8±0,1	55,7±0,1	92,2±0,2
4	73,1±0,3	68,8±0,2	100
4	88,8±0,2	18,0±0,1	88,1±0,2
3	61,2±0,1	12,4±0,2	76,9±0,1
10, 4, 3	92,5±0,5	84,2±0,3	100
4	87,7±0,4	0	67,0±0,3
2	91,4±0,1	92,2±0,1	92,4±0,1
10, 2	56,9±0,3	86,7±0,1	100
10, 5, 2	11,1±0,5	79,9±0,3	100
12, 10, 9, 5, 4, 2	61,6±0,1	52,5±0,2	93,0±0,1
10, 2	82,5±0,2	64,8±0,2	93,4±0,2
10, 9, 2	81,0±0,1	100	100
12, 10, 3	71,9±0,2	84,8±0,1	100
12, 10, 8	66,4±0,1	75,0±0,3	100
12, 10, 9	75,1±0,1	46,1±0,3	100
12, 10, 2	78,7±0,3	73,0±0,1	100
12, 9	77,4±0,2	52,8±0,2	100
12, 9, 2	88,2±0,1	100	100
12, 7, 2	69,9±0,2	100	100
12, 10, 2	56,3±0,2	83,7±0,2	92,1±0,3
13, 12, 9, 7, 2	78,3±0,2	62,6±0,2	100
16, 13, 12, 11, 10, 7	71,5±0,4	87,7±0,3	100
14, 13, 12, 10, 7, 6	74,2±0,3	18,8±0,4	100
13, 12	81,2±0,2	56,2±0,2	100
16, 13, 12	19,5±0,2	100	100
16, 13, 12	81,5±0,4	100	100
13, 12, 10	95,5±0,4	100	100
16,13,12,6	90,9±0,3	100	85,8±0,1
16, 14, 13, 11	82,7±0,2	100	100

\*Структуры соединений, соответствующие указанным шифрам, см в табл. 1.

\*Structures of substances corresponding to the specified cipher, see table 1.

производных бифенила, отличающихся заместителями в молекуле (заместители отличаются по химической структуре, а также количественно) (табл. 1), поэтому при газохроматографическом анализе с колонки могут элюироваться с одинаковым временем удерживания несколько соединений разных модифицированных ПХБ.

Проведенный анализ показал, что иммобилизованные и планктонные клетки штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 проявляли деструктивную активность практически ко всем соединениям, представленным в смеси модифицированных ПХБ (табл. 2). Для планктонной культуры не отмечено 100%-ное разложение представленных в качестве субстрата соединений за 96 ч эксперимента. Напротив, при использовании клеток штамма КТ112-7 иммобилизованных на активированном угле БАУ-А, к концу эксперимента процент деструкции модифицированных ПХБ составлял от 12,4 до 100%, причем полному разложению подверглись гидрокси- и метоксипроизводные ПХБ, содержащие 4-5 атомов хлора (рис. 4, табл. 1, табл. 2). Также в 1,5 раза, по сравнению с содержанием в исходной смеси, сократилось количество определяемых производных ПХБ.

Анализ состава смеси модифицированных ПХБ после деструкции с применением клеток штамма КТ112-7, иммобилизованных на углеродном волокне Карбопон-В-актив, показал, что количество производных сократилось в 3 раза и большинство модифицированных ПХБ подверглись полному разложению (рис. 4, табл. 2).

Анализ состава смеси модифицированных ПХБ в абиотическом контроле не выявил изменений в составе представленных в начальной смеси гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксипроизводных хлорированных бифенилов. Таким образом, изменения в составе смеси модифицированных ПХБ после деструкции штаммом КТ112-7, иммобилизованным на разных носителях, может быть обусловлено более высокой разлагающей активностью системы «клетки КТ112-7–Карбопон-В-актив».

В результате проведенного исследования установлено, что инертные углеродные носители могут эффективно применяться для иммобилизации клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 – деструктора ПХБ. Впервые показано, что иммобилизация клеток штамма КТ112-7 на углеродном волокне марки Карбопон-В-актив повышает эффективность биодеструкции смеси гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксипроизводных ПХБ по

сравнению с уровнем биодеструкции данной смеси планктонными клетками. Напротив, иммобилизация клеток штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 на активированном угле БАУ-А приводит к снижению данного показателя. Установлено, что углеродные носители, использованные в настоящем исследовании, обладают низкой сорбционной емкостью в отношении смеси гидрокси-, метокси- и гидроксиметоксипроизводных ПХБ. При этом зафиксирован процесс десорбции модифицированных ПХБ с носителей при нахождении в минеральной среде. Таким образом, показана возможность эффективного обезвреживания ПХБ после стадии химической модификации с использованием иммобилизованных клеток штамма-деструктора *R. wratislaviensis* КТ112-7.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комплексной программой УрО РАН № 18-3-8-19.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Спектроскопия и анализ органических соединений».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Erikson M.D., Kaley II R.G. Applications of polychlorinated biphenyls. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2011, 18(2), 135–151. doi: 10.1007/s11356-010-0392-1
2. Sharma J.K., Gautam R.K., Nanekar S.V. et al. Advances and perspective in bioremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soils. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2018, 25, 16355–16375. doi: 10.1007/s11356-017-8995-4
3. Gioia R., Akidele A.J., Adebuseye S.A., et al. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in Africa: a review of environmental levels. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2014, 21, 6278–6289. doi: 10.1007/s11356-013-1739-1
4. Wiegel J., Wu Q.Z. Microbial reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls. *FEMS Microbiol. Lett.* 2000, 32, 1–15.
5. Горбунова Т.И., Первова М.Г., Салоутин В.И., Чупахин О.Н. Химическая функционализация полихлорированных бифенилов: новые достижения. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2018, 728.
6. Горбунова Т.И., Первова М.Г., Забелина О.Н. и др. Полихлорирбифенилы. Проблемы экологии, анализа и химической утилизации. М.: Красанд, 2011, 400.
7. Горбунова Т.И., Первова М.Г., Панюкова А.А. и др. Пример междисциплинарного подхода к проблеме обезвреживания техногенных полихлорбифенилов. *Доклады Академии Наук.* 2014. Т. 454, № 4. С. 411–416. doi: 10.7868/S086956521404015X

8. Pieper D.H. Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2005, 67(2), 170–191. doi: 10.1007/s00253-004-1810-4
9. Егорова Д.О., Первова М.Г., Демаков В.А., Плотникова Е.Г. Особенности разложения хлорированных бифенилов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 в условиях засоления. *Прикладная биохимия и микробиология*, 2018, 54 (3), 253–263. doi:10.7868/S0555109918030042
10. Mizukami-Murata S., Sakakibara F., Fojita K. et al. Detoxification of hydroxylated polychlorobiphenyls by *Sphingomonas* sp. Strain N-9 isolated from forest soil. *Chemosphere*. 2016, 165, 173–182. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.08.127
11. Sondossi M., Sylvestre M., Ahmad D. et al. Metabolism of hydroxybiphenyl and chloro-hydroxybiphenyl by biphenyl/chlorobiphenyl degrading *Pseudomonas testosterone*, strain B-356. *J. Industr. Microbiol.*, 1991, 7, 77 – 88.
12. Tehrani R., Lyv M.M., Van Aken B. Transformation of hydroxylated derivatives of 2,5-dichlorobiphenyl and 2,4,6-trichlorobiphenyl by *Burkholderia xenovorans* LB400. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2014, 21, 6346–6353. doi: 10.1007/s11356-013-1629-6
13. Егорова Д.О., Горбунова Т.И., Первова М.Г. и др. Бактериальная деструкция смеси, полученной при химической модификации полихлорированных бифенилов полиэтиленгликолями. *Биотехнология*, 2013, 4, 56–64. doi:10.1134/S0003683814070023
14. Alvarez A., Saez J.M., Costa J.S.D., et al. Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals. *Chemosphere*, 2017, 166, 41–62. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.070
15. Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г., Кузнецова М.В. и др. Иммуобилизация на углеродных сорбентах клеток штамма *Rhodococcus ruber* gt1, обладающего нитрилгидратазной активностью. *Прикладная биохимия и микробиология*, 2007, 43(2), 193–198.
16. Максимова Ю.Г., Максимов А.Ю., Демаков В.А. и др. Гидролиз акрилонитрила клетками нитрилконвертирующих бактерий, иммобилизованных на волокнистых углеродных адсорбентах. *Биотехнология*, 2010, 4, 51–58.
17. Генералова К.Н., Минькова А.А., Олонцев В.Ф. Адсорбция клеток бактерий на углеродных сорбентах. *Вестник пермского нац. исслед. политех. ун-та. Химическая технология и биотехнология*, 2014, 2, 53–64.
18. Edwards S.J., Kjellerup B.V. Application of biofilms in bioremediation and biotransformation of persistent organic pollutants, pharmaceuticals/personal care products, and heavy metals. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013, 97(23), 9909–9921. doi: 10.1007/s00253-013-5216-z
19. Егорова Д. О., Корсакова Е. С., Демаков В.А. и др. Деструкция ароматических углеводов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7, выделенным из отходов соледобывающего предприятия. *Прикладная биохимия и микробиология*, 2013, 49(3), 267–278. doi: 10.7868/S0555109913030070
20. Плотникова К.А., Первова М.Г., Горбунова Т.И. и др. Оптимизация химической стадии подготовок технических полихлорбифенилов к уничтожению. *Доклады Академии Наук*, 2017, 476(1), 45–50. doi: 10.7868/S0869565217250107
21. Синецын А.П., Райнина Е.И., Лозинский В.И. и др. Иммобилизованные клетки микроорганизмов. М.: Изд-во МГУ, 1994, 288.
22. Vasilyeva G.K., Strijakova E.R., Nikolaeva S.N., et al. Dynamics of PCB removal and detoxification in historically contaminated soils amended with activated carbon. *Environ. Pollut.*, 2010, 158, 770–777. doi: 10.1016/j.envpol.2009.10.010
23. Huang S., Bao J., Shan M., et al. Dynamic changes of polychlorinated biphenyls (PCBs) degradation and adsorption to biochar as affected by soil organic carbon content. *Chemosphere*, 2018, 211, 120–127. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.07.133
24. Mercier A., Joulain C., Michel C., et al. Evaluation of three activated carbons for combined adsorption and biodegradation of PCBs in aquatic sediment. *Water Res.*, 2014, 59, 304–315.
25. Kim A.A., Djuraeva G.T., Takhtobin K.S., et al. Investigation of PCBs biodegradation by soil bacteria using tritium-labeled PCBs. *J. Radioanalit. Nucl. Chem.*, 2004, 259 (2), 301–304.
26. Wang Y., Wang L., Wang Y.-J., et al. Measuring the bioavailability of polychlorinated biphenyls to earthworms in soil enriched with biochar or activated carbon using triolein-embedded cellulose acetate membrane. *J. Soils Sediments*, 2016, 16, 527–536.
27. Weber J.B., Mrozek E. Polychlorinated biphenyls: phytotoxicity, absorption and translocation by plants, and inactivation by activated carbon. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 1979, 23, 412–417.
28. Mercier A., Wille G., Michel C., et al. Biofilm formation vs. PCB adsorption on granular activated carbon in PCB-contaminated aquatic sediment. *J. Soils Sediments*, 2013, 13, 793–800.



# Immobilization of *Rhodococcus wratislaviensis* Strain KT112-7 Cells in Order to Increase Efficiency of Biodegradation of Modified Polychlorinated Biphenyls

D.O. EGOROVA<sup>1</sup>, M.G. PERVOVA<sup>2</sup>, T.I. GORBUNOVA<sup>2</sup> V.A. DEMAКOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm Federal Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia 614081*

<sup>2</sup>*Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia, 620137*

\*e-mail: daryao@rambler.ru

Received January 10, 2019

Revised March 11, 2019

Accepted March 15, 2019

**Abstract**—The degradation of a mixture of hydroxy- and methoxy-PCB obtained as a result of a chemical modification of a commercial mixture of PCB «Sovol» by the *Rhodococcus wratislaviensis* strain KT112-7 in plankton culture or immobilized on carbon carriers has been investigated. It was established that the KT112-7 strain in plankton culture degraded 73.2% of a mixture of modified PCBs for 96 h; the strain immobilized on BAU-A activated carbon and on Carboпон-B-active carbon fiber provided the 59.5% and 95.3% degradation for the same time, respectively (with the starting concentration of PBS of 0.5 g/L). The application of the *R. wratislaviensis* KT112-7 strain immobilized on the BAU-A carrier decreased the number of the PCB derivatives by 1.5 times at the end of the experiment; the corresponding result for the Carboпон-B-active-immobilized culture was 3 times; the set of PCBs after the treatment with the suspension culture remained unchanged. In practice, the immobilization of *R. wratislaviensis* KT112-7 strain on carbon carriers can be used in the development of the techniques for the degradation of chemically modified PCB mixtures.

**Key words:** polychlorinated biphenyls, immobilization, destruction, utilization, PCB, *Rhodococcus*.

**Funding**—This work was supported by the Integrated Program of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences No. 18-3-8-19.

**Acknowledgments**—The work was performed using the equipment of the Center for collective use «Spectroscopy and analysis of organic compounds».

**doi:** 10.21519/0234-2758-2019-35-2-58-70