

УДК 579.222.4

## ИЗВЛЕЧЕНИЕ ИОНОВ НИКЕЛЯ ИЗ МЕТАЛЛОПОРФИРИНА АКТИНОМИЦЕТАМИ РОДА *RHODOCOCCUS*

*М.В. Макарова<sup>1,2</sup>, М.С. Куюкина<sup>1,2</sup>, И.Б. Ившина<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>*«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия*

<sup>2</sup>*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия*

Аннотация. Исследована способность коллекционных штаммов родококков деме­таллизировать металлопорфирин никеля. Определен пик поглощения Соре при длине волны 392 нм. Наиболее эффективно извлечение ионов металла происходит в водной фазе штаммами *R. cerastii* ИЭГМ 1278 и *R. qingshengii* ИЭГМ 1359.

Ключевые слова: актиномицеты, родококки, порфирины, деме­таллизация, никель.

## EXTRACTION OF NICKEL IONS FROM METALLOPORPHYRIN BY ACTINOMYCETES OF THE GENUS *RHODOCOCCUS*

*M.V. Makarova<sup>1,2</sup>, M.S. Kuyukina<sup>1,2</sup>, I.B. Ivshina<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Perm, Russia*

<sup>2</sup>*Microbiology and Immunology Department, Perm State University, Perm, Russia*

The ability of collection strains of *Rhodococcus* to demetallize nickel metalloporphyrin was studied. The Soret absorption peak was determined at a wavelength of 392 nm. The most efficient extraction of metal ions occurs in the aqueous phase by strains *R. cerastii* IEGM 1278 and *R. qingshengii* IEGM 1359.

**Keywords:** actinomycetes, *Rhodococcus*, porphyrins, demetallization, nickel.

В процессе переработки сырой нефти измеримые количества металлов, которые могут присутствовать в формах солей и металлоорганических фракций, концентрируются при выпаривании легких фракций, что приводит к двум основным проблемам: (1) при утилизации нефтеотходов методом сжигания образуются золы с высокой концентрацией оксидов металлов и (2) при каталитическом крекинге металлы откладываются на катализаторах, в результате чего происходит снижение их селективности и производительности. Среди металлоорганических соединений нефти наиболее распространены ванадий и никельсодержащие комплексы. В то время как свободные соли металлов, присутствующие в нефти в виде неорганических водорастворимых форм, удаляются водной фазой, для удаления металлопорфиринов требуются дополнительные методы очистки (селективная экстракция, каталитическая гидроочистка и др.). Гидродеметаллизация металлоорганических фракций протекает при высоком давлении водорода и повышенной (400 °С) температуре. Каталитическое гидродеметаллирование металлопорфиринов селективно удаляет соединения металлов в виде отложений сульфидов на поверхности катализатора. Биодеметаллизация металлопорфиринов по сравнению с химическими методами протекает в более мягких условиях и не вызывает вторичное загрязнение окружающей среды [5-9].

Актиномицеты рода *Rhodococcus* обладают высокой устойчивостью к воздействию экотоксикантов (углеводородов нефти, фармполлютантов, солей и наночастиц металлов,

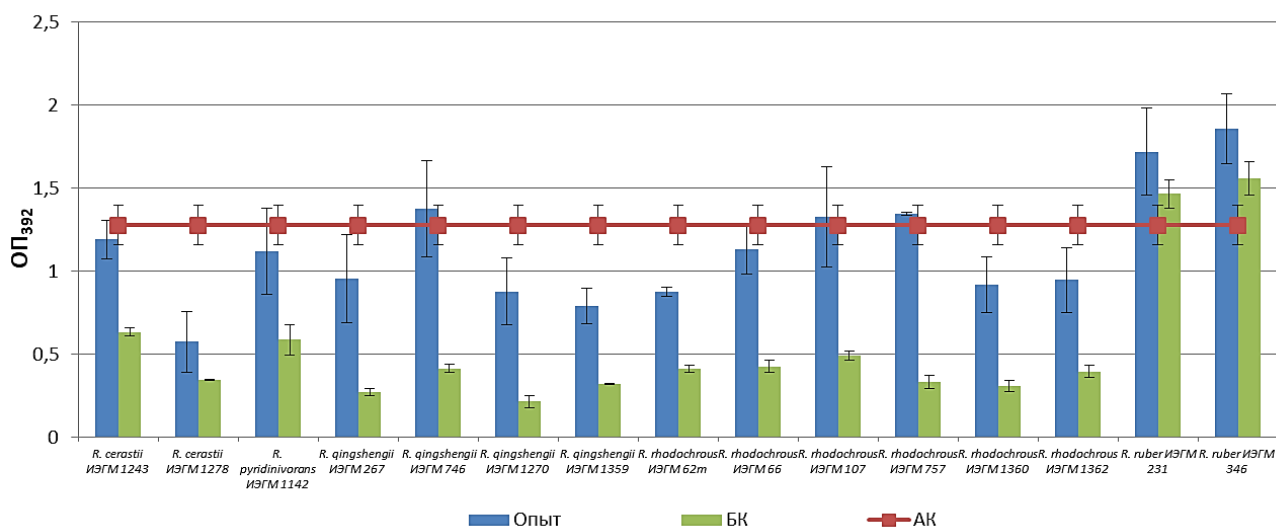
органических растворителей и пестицидов) [1,2]. Родококки обладают устойчивостью к ионам никеля (до 10.0 мМ) и способны извлекать из среды до 60-95% ионов металла [3].

На основе ранее проведенных исследований [4] для работы отобраны штаммы *R. cerastii* ИЭГМ 1243, ИЭГМ 1278; *R. pyridinivorans* ИЭГМ 1142; *R. qingshengii* ИЭГМ 267, ИЭГМ 746, ИЭГМ 1270, ИЭГМ 1359; *R. rhodochrous* ИЭГМ 62<sup>г</sup>, ИЭГМ 66, ИЭГМ 107, ИЭГМ 757, ИЭГМ 1360, ИЭГМ 1362; *R. ruber* ИЭГМ 231, ИЭГМ 346 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC #285, ЦКП 480868, УНУ 73559, <http://www.iegmcoll.ru>). В геномах данных штаммов обнаружен ген *qcrC*, кодирующий С субъединицу убихинол-цитохром С редуктазы. Установлено, что данный белок входит в белковый комплекс, участвующий в переносе электронов в дыхательной цепи, и, возможно, он является полифункциональным – восстанавливает не только убихинол-цитохром С, но и органические соединения металлов.

Бактериальные культуры выращивали на МПА при 28°C в течение 3 сут, суспензии готовили в 3мМ КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> (рН3) буфере до значения оптической плотности (ОП<sub>600</sub>), равной 0,5. Синтетический металлопорфирин 2,3,7,8,12,13,17,18-октаэтил-21Н,23Н-порфин никель (II) (NiOEP) (Macklin, Китай) растворяли в дихлорметане.

После выпаривания дихлорметана были добавлены реакционные смеси. Реакционные смеси содержали металлопорфирин (конечная концентрация 17 мкМ), смесь толуол:изопропанол:бактериальная суспензия в пропорциях 15:60:25 и Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> (конечная концентрация 0,003%). Смеси инкубировали в течение суток при перемешивании в темноте. После образцы центрифигировали (7000 об./мин, 5 мин) для разделения эмульсии на водную и органическую фазы на центрифуге Mikro 22R (“Hettich Zentrifugen”, Германия). Для определения оптической плотности использовали спектрофотометр Lambda EZ201 (UV/Vis) (Perkin-Elmer, США). Извлечение ионов металла детектировали по изменению пика поглощения Соре при длинах волн 392 нм [9] и 410 нм [7] для водной и органической фаз. Снижение оптической плотности (пика Соре) в водной фазе свидетельствует о разрушении порфириновых колец и выходе свободного никеля [8]. Степень разложения порфирина никеля также определяли по разнице в поглощении между 557 и 540 нм, поскольку порфирин никеля подобен протогему, который характеризуется высотой пика над впадиной, лежащей между данными пиками [9].

По нашим данным (рис. 1, 2), длина волны 410 нм не попадала в пик поглощения Соре, при этом максимальный пик в абиотическом контроле (АК) наблюдался в органической фазе при длине волны 392 нм. Наиболее эффективно бактериальная демеетализация NiOEP происходила в водной фазе (снижение пика Соре при длине волны 392 нм до 55%), тогда как в органической фазе пик поглощения снижался только на 20%. Аналогичные изменения наблюдались при демеетализации порфиринов ванадия с помощью клеток *Aspergillus* sp. [8].



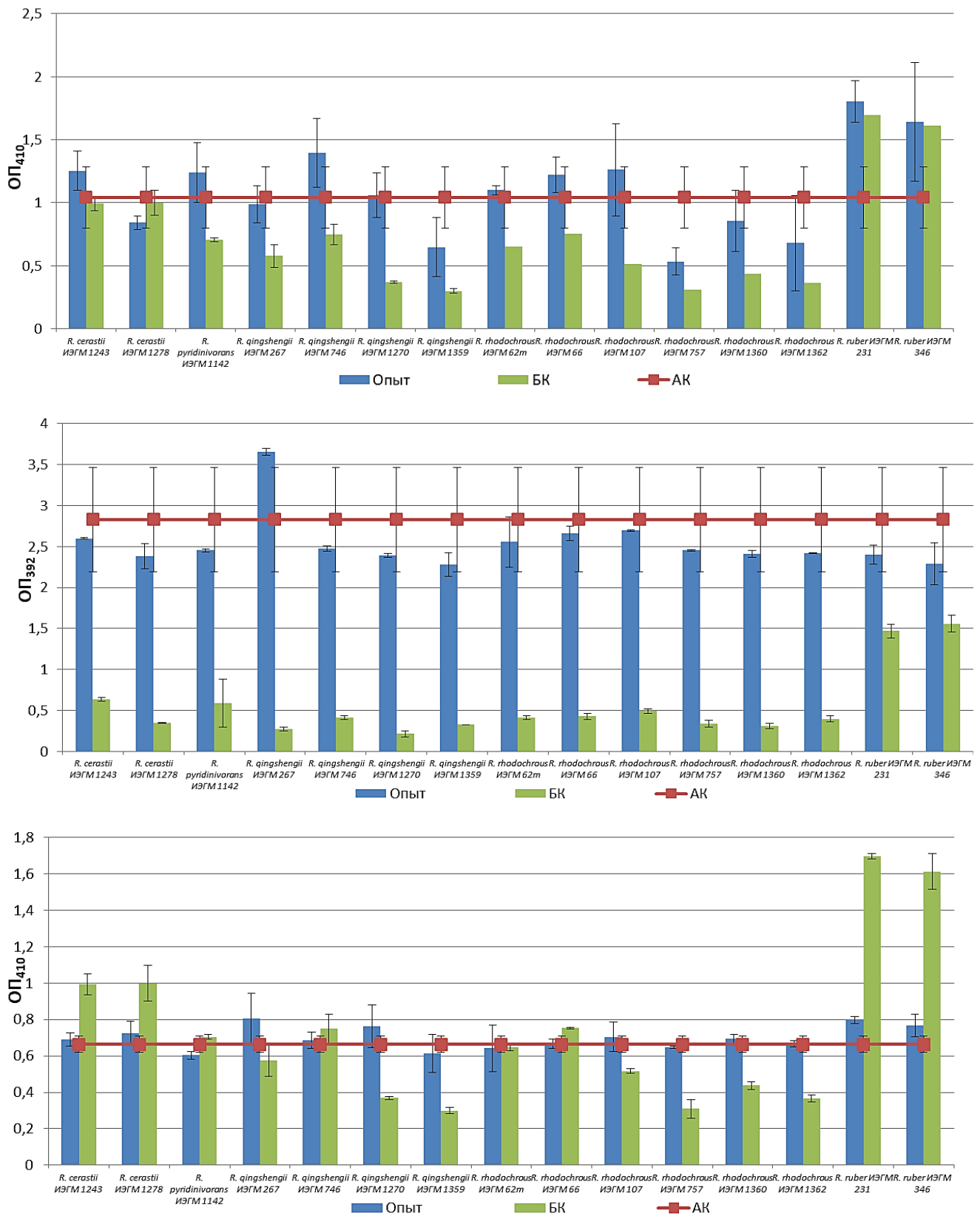


Рис. 2. Изменение ОП органической фазы

Среди исследованных родококков наибольшая эффективность процесса биодеметаллизации NiOEP отмечена для *R. cerastii* ИЭГМ 1278 и *R. qingshengii* ИЭГМ 1359,

причем степень разложения порфирина никеля в присутствии данных штаммов была выше в органической фазе, чем в водной. Культуры *R. cerastii* ИЭГМ 1278 и *R. qingshengii* ИЭГМ 267 проявляли наибольшую эффективность по разложению порфирина в водной фазе, тогда как штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 66 и *R. rhodochrous* ИЭГМ 107 были более эффективны в органической фазе (рис. 3). Для оптимизации процесса деме­таллизации NiOEP была составлена бактериальная ассоциация *R. cerastii* ИЭГМ 1278 и *R. qingshengii* ИЭГМ 1359, однако ее эффективность оказалась ниже, чем у каждого из штаммов (рис. 4), что требует дальнейшего исследования.

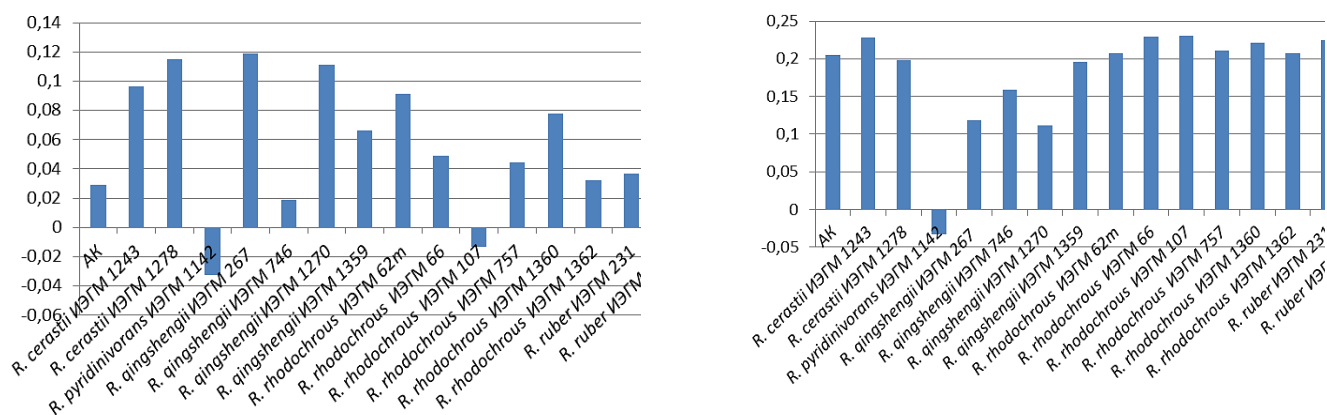


Рис. 3. Разница ОП при длинах волн 557 и 540 нм водной (слева) и органической (справа) фазы

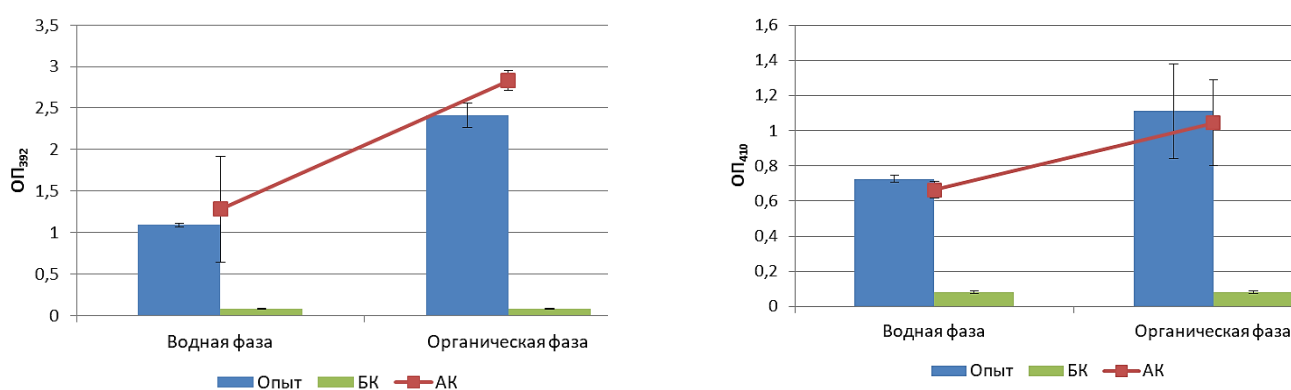


Рис. 4. Изменение ОП водной и органической фазы при длинах волн 392 нм (слева) и 410 нм (справа) при использовании ассоциации *R. cerastii* ИЭГМ 1278 и *R. qingshengii* ИЭГМ 1359

Таким образом, полученные результаты подтверждают способность родококков к извлечению ионов никеля из синтетического металлопорфирина. Отобраны штаммы *R. cerastii* ИЭГМ 1278 и *R. qingshengii* ИЭГМ 1359, пригодные для деме­таллизации органических фракций нефти.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания 124020500028-4, FSNF–2023–0004, а также при финансовой поддержке Министерства образования и науки Пермского края (Соглашение № 26/827).

### Библиографический список

- Ившина И.Б., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Криворучко А.В., Тюмина Е.А., Елькин А.А. Угледородокисляющие родококки: особенности биологической организации под

- воздействием экополлютантов. Атлас-монография / Под ред. И.Б. Ившиной. УрО РАН, 2021. С. 140
2. Коршунова И.О., Писцова О.Н., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Влияние органических растворителей на жизнеспособность и морфофункциональные свойства родококков // Прикладная биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. №1. С. 1–9.
  3. Литвиненко Л.В. Способность актинобактерий родов *Dietzia*, *Gordonia* и *Rhodococcus* аккумулировать ионы никеля // Микробиология. 2019. Т. 88. №2. Р. 207-126.
  4. Макарова М.В., Куюкина М.С., Криворучко А.В. Внутриклеточное восстановление ионов никеля и ванадия актинобактериями рода *Rhodococcus* // Фундаментальные и прикладные аспекты биологии: сборник статей Международной конференции ученых-биологов (г. Пермь, ПГНИУ 30 октября – 03 ноября 2023 г.). Пермь, 2024. С. 67-71.
  5. Мустафина Э.А., Полетаева О.Ю., Мовсумзаде Э.М. Тяжелые металлоносные нефти и их деметаллизация // НефтеГазоХимия. 2014. №4. С. 15-18.
  6. Mandal P. C., Goto M., Sasaki M. Removal of Nickel and Vanadium from Heavy Oils Using Supercritical Water // Journal of the Japan Petroleum Institute. 2014. V. 57. №1. P. 18-28.
  7. Mogollon L., Rodriguez R., Larrota W., Ortiz C., Torres R. Biocatalytic removal of nickel and vanadium from petroporphyrins and asphaltenes // Appl. Biochem. Biotechnol. 1998. V. 70-72. P. 765-777.
  8. Salehizadeh H., Mousavi M., Hatamipour S., Kermanshahi K. Microbial Demetallization of Crude Oil Using *Aspergillus* sp.: Vanadium Oxide Octaethyl Porphyrin (VOOEP) as a Model of Metallic Petroporphyrins // Iranian Journal of Biotechnology. 2007. V.5. №4. P. 226-231.
  9. Xu G.W., Mitchell K.W., Monticello D.J. Process for demetalizing a fossil fuel. USA Patent. 1996. 21 p.