

ВТОРОЕ ДЕСЯТИЛЕТИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ЭКОТОКСИКАНТОВ

А.З. Миндубаев¹, Э.В.Бабынин³, С.Т.Минзанова², Л.Г.Миронова², Е.К. Бадеева²

¹Казанский национальный исследовательский технологический университет,

420015, Казань, ул. Карла Маркса, 68. E-mail: mindubaev-az@yandex.ru,

²Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия.

³ КазНЦ РАН 420059, г. Казань, Оренбургский тракт, 20а.

Аннотация. Впервые в мире осуществлена биологическая детоксикация элементного – белого и красного – фосфора. Получены культуры плесневых грибов, превращающие вещество первого класса опасности белый фосфор в безвредный фосфат. В перспективе результаты исследований могут стать основой эффективных методов предотвращения и ликвидации загрязнений токсичными соединениями фосфора.

Ключевые слова: биodeградация, токсичные соединения фосфора, *Aspergillus niger*

SECOND DECADE OF RESEARCH ON BIOLOGICAL TRANSFORMATION OF ECOTOXICANTS

Mindubaev A.Z.¹, Babynin E.V.³, Minzanova S.T.², Mironova L.G.², Badeeva E.K.²

¹Kazan National Research Technological University, 68, Karl Marks St., Kazan, 420015.

E-mail: mindubaev-az@yandex.ru ,

²Institute of Organic and Physical Chemistry named after A.E. Arbuzov. A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry FRC KazSC RAS, Kazan, Russia. 3FRC KazSC RAS,

420059, Kazan, Orenburgskiy trakt, 20a.

Abstract. For the first time in the world, biological detoxification of elemental - white and red - phosphorus was realized. Cultures of mold fungi were obtained that transform the substance of the first class of hazard white phosphorus into harmless phosphate. In the future, the results of research may become the basis for effective methods of prevention and elimination of pollution by toxic phosphorus compounds.

Keywords: biodegradation, toxic phosphorus compounds, *Aspergillus niger*

Введение. С 2009 года нашим коллективом ведется работа по исследованию биodeградации - в первую очередь, фосфорсодержащих соединений. Впервые в мире осуществлена биологическая детоксикация элементного – белого и красного – фосфора. Получены культуры плесневых грибов, превращающие вещество первого класса опасности белый фосфор в безвредный фосфат. Это первый пример включения белого фосфора в биосферный круговорот элемента фосфора. В перспективе результаты исследований могут стать основой эффективных методов предотвращения и ликвидации загрязнений токсичными соединениями фосфора.

Более восьми лет назад, в октябре 2014 года нами выделена экстремотолерантная культура гриба черного аспергилла, превращающая токсичные соединения фосфора в фосфат, который может служить подкормкой для растений [1]. Мы впервые в мире наблюдали биodeградацию аллотропных модификаций элементного фосфора, белого, и красного (рис. 1).

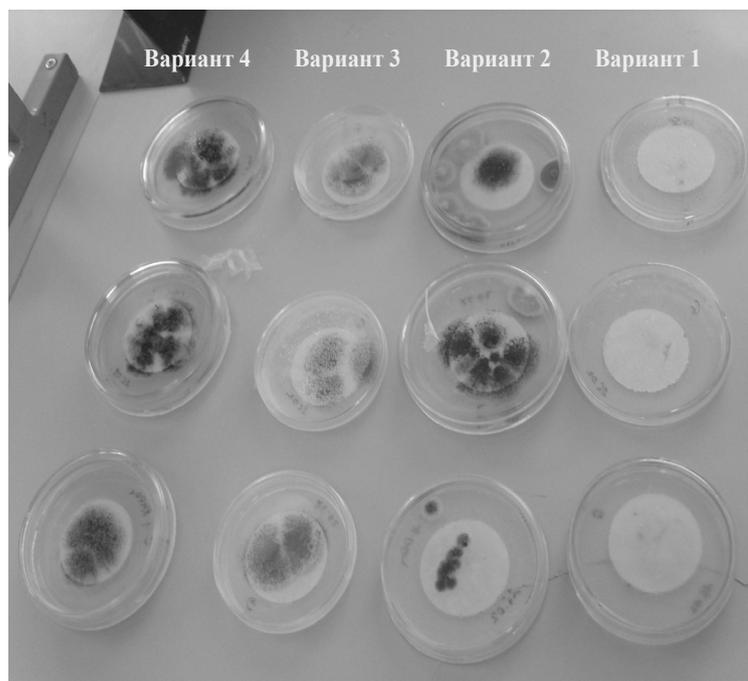


Рис.1 – А. Посев *A. niger* AM1, устойчивых к белому фосфору. Варианты: 1 – среда без источников фосфора; 2 – с фосфатом; 3 – с белым фосфором (0.2%); 4 – с 0.2% P_4 и фосфатом. На 12 сутки после посева *A. niger* AM1 в четыре варианта среды, наблюдалась следующая картина. В средах без источников фосфора рост практически не наблюдается (вариант 1). В средах с фосфатом аспергилл хорошо растет и спороносит (вариант 2). В средах с 0.2% белого фосфора колонии аспергилла имеют бледно-серый цвет (пониженная фертильность) (вариант 3). Снимок на цифровой фотоаппарат Samsung, 9 03 2016 г.

Результаты и обсуждение.

При воздействии белого фосфора наблюдается резкое изменение морфологии и протеома исследуемых грибов, позволяющее им более эффективно защищаться от токсического воздействия, существовать в загрязненной среде и превращать токсичные загрязнители в компоненты фосфорных удобрений.

Происхождение штамма *Aspergillus niger*, выделенного из емкости с кусковым белым фосфором, воспроизведена с построением филогенетического дерева по базе *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Роль контролей выполняют внешние группы - штаммы других видов: аспергилл атласный *A. bombycis* и аспергилл дымящийся *A. fumigatus*. Штаммы из одного кластера, состоящие в близком родстве друг с другом, должны быть сходны по характеристикам. Филогенетический анализ позволяет приблизительно оценивать потенциальные токсичность, патогенность и аллергенность штаммов, а также ряд параметров, интересных для биотехнологов. В наибольшем родстве со штаммом AM1 состоят штаммы черного аспергилла FP1 и NJDL-12 из Китая, способные к переводу нерастворимых в воде фосфатных минералов в биологически доступную форму.

Таким образом, AM1 относится к кластеру штаммов, распространенному в Южной Азии и адаптированному к существованию в условиях нехватки биодоступного фосфора. Китай производит свыше 70% белого фосфора в мире, поэтому вещество (а с ним и споры микроорганизмов) могли быть импортированы в Россию из этой страны.

Для того, чтобы подтвердить родство с известными солубилизаторами фосфатов, мы исследовали способность *Aspergillus niger* AM1 метаболизировать ортофосфат кальция $Ca_3(PO_4)_2$ – наиболее распространенную форму фосфора в природе, но при этом малодоступную для живых организмов из-за практической нерастворимости в воде. Оказалось, что штамм потребляет нерастворимый фосфат так же легко, как растворимые фосфаты, входящие в состав

культуральных сред. То есть, действительно является солюбилизатором фосфата, как следует из теоретических результатов анализа базы NCBI, представленных в работе [1].

Интересно, что в декабре 2016 года мы получили дочерний штамм гриба *A. niger* AM2, еще более адаптированный к росту в среде с белым фосфором. Утолщенная клеточная стенка и увеличенные митохондрии у него наблюдаются и в контроле, в отсутствие этого токсичного вещества [2].

Мы впервые в мире обнаружили у белого фосфора генотоксическое, ДНК повреждающее свойство. Причем на нескольких объектах: прокариотическом организме - бактерии *Salmonella typhimurium* и эукариотическом – растении *Allium cepa*. Наши исследования показали, что белый фосфор является сильным мутагеном и даже в низкой концентрации 0.008% вызывает резкое увеличение частоты генных и геномных перестроек. То есть, является еще более опасным для окружающей среды и людей, чем считалось до сих пор [3].

Для фосфорных соединений велики перспективы биodeградации по причине того, что опасность фосфатов для окружающей среды существенно ниже, чем восстановленных соединений фосфора. Элемент фосфор в виде простых веществ и восстановленных соединений является опаснейшим загрязнителем окружающей среды, поскольку эти вещества сильно ядовиты, а некоторые, к тому же, огнеопасны. Однако живые клетки всегда накапливают окисленную форму фосфора – фосфат, в составе самых разнообразных органических и неорганических молекул. Если доля фосфора в земной коре составляет 0.12%, то в биомассе живых организмов концентрация этого элемента составляет уже 3%, т.е. в 25 раз выше! Для фосфорорганических соединений биodeградация уже применяется [4]. Но для элементного (белого и красного) фосфора она стала известна только из наших работ.

Начаты исследования активности лектинов *A. niger* AM1 и AM2. Показано, что у обоих штаммов, несмотря на их близкое родство, активность лектинов заметно различается. Исследована гемагглютинирующая активность лектинов, их влияние на клетки одноклеточной водоросли хлореллы. Планируется исследование влияния лектинов на бактерии, грибы, а в более отдаленной перспективе - культуры раковых клеток.

В настоящее время продолжается исследование биodeградации при помощи исследуемых штаммов грибов пестицидов, содержащих фосфор, а также другие элементы, например, бор. Также, показана биodeградация лигнинсульфоната - отхода целлюлозно-бумажной промышленности.

В январе 2023 года наше ООО ИнТехТокс отметило круглую дату – пятилетний юбилей. В нем ведутся прикладные научные исследования по созданию биопрепаратов, способных очищать почвы и сточные воды от фосфорсодержащих загрязнителей. В настоящее время мы исследуем биodeградацию при помощи AM1 и AM2 веществ, не содержащих фосфор – нефтей и нефтепродуктов [4], древесины и продуктов ее переработки. Также, планируем изучать переработку полимерных материалов данными штаммами, извлечение редких элементов из минералов.

Впоследствии мы предполагаем внедрить технологию на шламонакопителях ПАО Новочебоксарский Химпром, ВОАО Волгоградский Химпром, Камтэкс Химпром г. Пермь (Россия), ООО Химпром Технология (г. Дзержинск), Леонидовском химическом арсенале (Пензенская область).

Нашей разработкой уже заинтересовались партнеры из Самарского Политеха (СамГТУ), планирующие ликвидацию очагов загрязнения желтым фосфором территории бывшего ОАО "Фосфор" в рамках Стратегии социально-экономического развития Самарской области до 2030 года.

Библиографический список

1. Mindubaev A.Z., Babynin E.V., Bedeeva E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G., Akosah Y.A. Biological Degradation of Yellow (White) Phosphorus, a Compound of First Class Hazard // Russian

Journal of Inorganic Chemistry. – 2021. – Volume 66. № 8. – P. 1239-1244. DOI: 10.1134/S0036023621080155

2. Mindubaev A.Z., Kuznetsova S.V., Evtyugin V.G., Daminova A.G., Grigoryeva T.V., Romanova Y.D., Romanova V.A., Babaev V.M., Buzyurova D.N., Babynin E.V., Badeeva E.K., Minzanova S.T., Mironova L.G. Effect of White Phosphorus on the Survival, Cellular Morphology, and Proteome of *Aspergillus niger* // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2020. – Vol.56. No.2. – P.194-201. DOI: 10.1134/S0003683820020118

3. Mindubaev A., Babynin E., Minzanova S., Badeeva E., Akosah Y. White phosphorus genotoxicity. Bio web of conference. – 2021. – Vol.31. No.00018. – P.1-3. DOI: 10.1051/bioconf/20213100018

4. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г. Способ детоксикации нефти с применением штамма *Aspergillus niger* AM1BKM F-4815D // Патент РФ № 2791735 от 13.03.2023. Бюлл. изобр. № 8.