

АНАЛИЗ ПУТЕЙ ДЕГРАДАЦИИ ПЕСТИЦИДОВ НА ОСНОВЕ 2,4-Д-КИСЛОТ БАКТЕРИЯМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ

ИГНАТОВЕЦ Ольга Степановна, к.б.н., доцент кафедры биотехнологии и биоэкологии

ЛЕОНТЬЕВ Виктор Николаевич, к.х.н., доцент,
заведующий кафедрой биотехнологии и биоэкологии

РАДЧЕНКО Юрий Сергеевич, к.т.н., доцент,
декан факультета технологии органических веществ
Белорусский государственный технологический университет

Пестициды на основе хлорфеноксикарбоновых кислот (ФКК) интенсивно применяются при уничтожении сорняков. Среди гербицидов этой группы широко применяются препараты с 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) в качестве действующего вещества [1]. Это химическое соединение используется в составе таких препаратов как «Дикопур», «Аминка», «Левират», «Эстерон», «Элант», «Прима», «Диамакс», «Флоракс» и более 1500 других гербицидов. Однако применение указанных ксенобиотиков влечет за собой целый ряд проблем экологического характера.

Биотехнологический подход к предупреждению нежелательных для биосферы последствий, основанный на использовании микроорганизмов-деструкторов, способных превращать молекулы ксенобиотиков в безопасные формы, является одним из самых современных и позволяет избежать образования продуктов вторичного загрязнения. Огромная роль в деградации циркулирующих в окружающей среде ксенобиотиков принадлежит почвенным бактериям [2]. Целенаправленное применение микроорганизмов-деструкторов для биоремедиации природных сред требует изучения путей биотрансформации указанных соединений.

На кафедре биотехнологии и биоэкологии из почв, где с различной периодичностью применялись указанные ксенобиотики, были выделены 8 штаммов бактерий-деструкторов 2,4-Д. Используя данные для идентификации, выделенные микроорганизмы охарактеризовали до рода по морфологическим и физиолого-биохимическим признакам: форма клеток, подвижность, окраска по методу Грама, оксидазная активность и каталазная активность, способность формировать гранулы поли- β -оксимасляной кислоты и наличие эндоспор. Культурально-морфологическая и физиолого-биохимическая характеристика выделенных бактерий позволила установить, что они являются представителями родов *Pseudomonas* sp. Д2, Д3, Д5 Д6, Д8, *Bacillus* sp. Д1, Д4, Д7.

На следующем этапе исследований с помощью метода ВЭЖХ-МС были изучены продукты биодеградации 2,4-Д наиболее активными штаммами.

На рисунке 1 представлена хроматограмма 2,4-Д и продуктов ее деградации. Идентификацию образовавшихся продуктов проводили на основании масс- и электронных спектров, зарегистрированных в хроматографических пиках в разные временные интервалы от начала ферментации

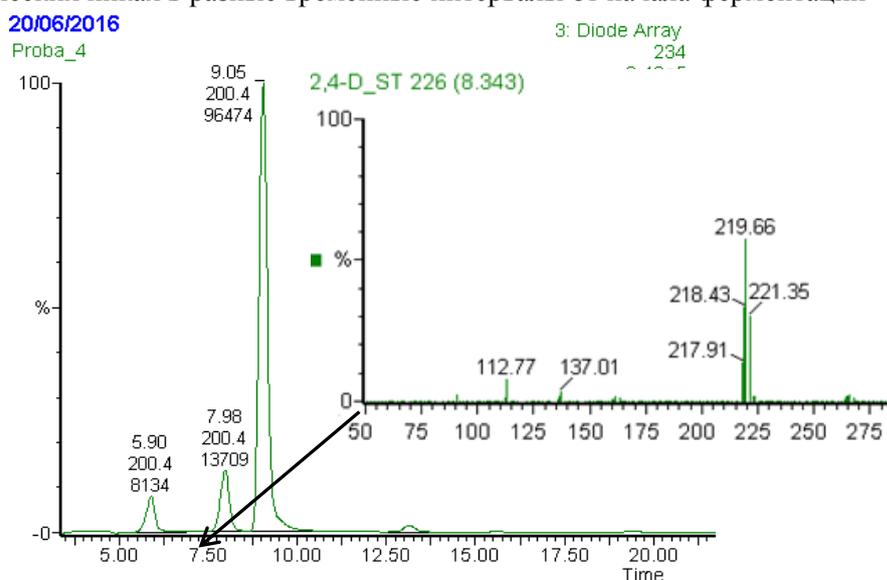


Рисунок 1 – Хроматограмма 2,4-Д и интермедиатов ее деградации (на 5-ые сутки культивирования) и масс-спектр 2,4-Д.

Продукт 1 – появлялся в КЖ на первые сутки культивирования бактерий-деструкторов. Хроматографический пик со временем удержания 9,05 мин (рисунок 2). В масс-спектре этого соединения, полученном при электроспрей ионизации в отрицательной области был зарегистрирован интенсивный пик молекулярного иона с m/z 162,01 соответствующий иону $[M-H]^-$ (рисунок 2). Электронный спектр данного соединения изменился по сравнению со спектром субстрата, а именно максимум поглощения сместился на 3 нм в красную область. На основании полученных результатов, сделали вывод о соответствии структуры продукта 1 2,4-дихлорфенолу, который образуется при воздействии на субстрат монооксигеназной ферментной системы, что хорошо согласуется с литературными данными.

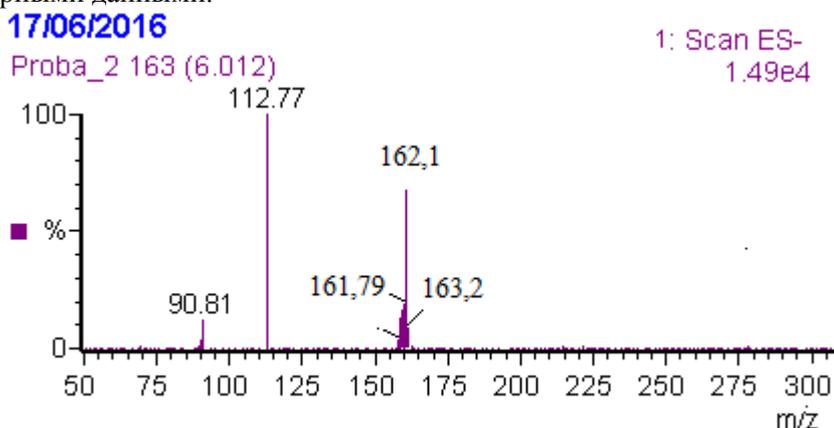


Рисунок 2 – Масс-спектр интермедиата биодеградации 2,4-Д (получен на 1-ые сутки культивирования)

Продукт 2 появлялся на 4-ые сутки культивирования, был более полярным чем 2,4-дихлорфенол (время выхода из колонки 5,9 мин). В масс-спектрах детектируется только в области отрицательно заряженных ионов. Хроматографически более подвижен, чем первый интермедиат. Масс-спектр представлен на рисунке 3. Данное соединение имеет молекулярный ион с m/z 191,5 и является 2-хлормалеилацетатом. Это соединение образуется за счет действия целого ряда ферментов и является одним из промежуточных продуктов деградации 2,4-дихлорфенола через ортоссащепление. Электронный спектр продукта имеет максимум поглощения при 275 нм. Это обусловлено сопряжением n и π электронов двойной $C-C$ связи и атомов кислорода.

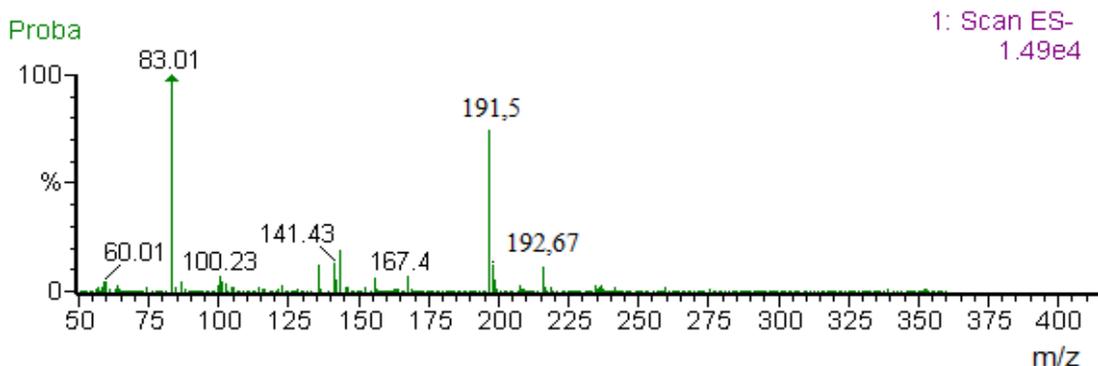


Рисунок 3– Масс-спектр интермедиата биодegradации 2,4-Д (получен на 5-ые сутки культивирования)

Таким образом, установлено что деградация 2,4-Д ферментными системами бактерий-деструкторов протекает через орто-расщепление 2,4-дихлорфенола и сопровождается образованием таких промежуточных продуктов как 2,4-дихлорфенол и 2-хлормалеилацет.

Полученные результаты будут использованы при разработке препарата для биоремедиации природных сред, загрязненных пестицидами на основе 2,4-Д.

Список использованных источников

1. Исследование деградации фенола, хлорфенолов и 2,4 дихлорфеноксиуксусной кислоты консорциумом микроорганизмов деструкторов /Л.Х. Халимова [и др.]; – Башкирский химический журнал, 2006. – Т. 13. № 1. – С. 210-224.
2. Stoytcheva, M Pesticides in the Modern World – Pesticides Useand Management / M. Stoytcheva.– Rijeka, Croatia: In Tech, 2011. – 520 p.