



УДК 579.26:574.64

## ВИКОРИСТАННЯ АРОМАТИЧНИХ СПЛУК БАКТЕРІЯМИ. II. РОЗКЛАДАННЯ АРОМАТИЧНИХ КСЕНОБІОТИКІВ

**Н. С. Верхоляк, Т. Б. Перетятко**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: nataljaverkholjak@gmail.com*

*Verkholiak N.S., Peretyatko T.B. Utilization of aromatic compounds by bacteria. II. Flexibility of aromatic xenobiotics. **Studia Biologica**, 2018: 12(3–4); 117–140 • DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1203.574>*

У цьому огляді детально розглянуто периферичні шляхи розкладання ароматичних сполук бактеріями. Ароматичні сполуки можуть деградуватися за участю бактерій в аеробних і анаеробних умовах. За наявності кисню аромосполуки можуть метаболізувати бактерії родів *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* та ін. За анаеробних умов розкладання сполук із бензольним ядром здійснюють сульфатвідновлювальні, нітратвідновлювальні та бродильні бактерії.

Деградація ароматичних сполук – складний довготривалий процес, який у природних умовах залежить від біотичних і абіотичних чинників. Периферичні шляхи розкладання аромосполук відрізняються залежно від їхньої будови, проте переважно вони ведуть до утворення центральних проміжних сполук: катехолу – за аеробних умов і бензоїл-КоА – за анаеробних.

Ароматичні сполуки, які перетворюються по бензоїл-КоА шляху, повинні містити карбоксильну групу (тобто бути ароматичною кислотою) або карбоксилуватися з утворенням ароматичної кислоти на одному з перших етапів метаболізму. Таким способом відбувається руйнування фенолу, *o*-крезолу, катехолу і гідрокінону. Усі проміжні сполуки відновлювального бензоат-шляху є КоА-тіоефірами. Ароматичні сполуки з двома або більше гідроксильними групами менш стабільні та легше піддаються деградації мікроорганізмами. Розкладання цих сполук не завжди пов'язано з карбоксилуванням як початковим етапом, а подальші процеси гідроксилування або перегруповання забезпечують зниження стійкості бензольного кільця.

У огляді розглянуто новий шлях розкладання ароматичних сполук, описаний Б. Шінком та ін., у якому гідроксигідрокінон є центральною проміжною сполукою.

По цьому шляху нітратвідновлювальні бактерії розкладають резорцин,  $\alpha$ -резорцилат, 3-гідроксибензоат, гентизинову кислоту й, можливо, гідрохінон, у реакціях гідроксилування та декарбоксилування.

У зв'язку з високою мобільністю і здатністю утворювати забруднювальні шлейфи у водоносних пластах вуглеводні нафти є одними з найпоширеніших забруднювачів підземних вод. Початкові етапи перетворення ароматичних сполук – бензену, толуену, етилбензену та ксилену (БТЕК) різними мікроорганізмами приводять до утворення бензоїл-КоА, який надалі розкладається по бензоїл-КоА шляху. З компонентів БТЕК толуен найлегше зазнає біодеструкції за анаеробних умов.

Діяльність підприємств сільського господарства та різних галузей промисловості сприяє безперервному надходженню ксенобіотиків, зокрема, ароматичної природи у довкілля. Важливим питанням, яке потребує вирішення, є пошук різноманітних методів очищення забрудненого середовища. Досить ефективним і екологічно безпечним способом є біоремедіація як технологія використання живих організмів з метою розкладання забруднювальних речовин до менш токсичних сполук або їхнього перетворення до вуглекислого газу та води. Тому дедалі частіше проводять дослідження можливості використання різних видів мікроорганізмів у детоксикації середовищ від забруднювальних речовин.

**Ключові слова:** фенол, ароматичні вуглеводні, гідрохінон, флороглюцин, пірогалол, деградація

## ВСТУП

Унаслідок діяльності людини в навколишнє середовище потрапляє велика кількість різноманітних речовин, зокрема, й сполуки ароматичної природи, що призводять до зміни природних ландшафтів, забруднення атмосфери і природних водних об'єктів.

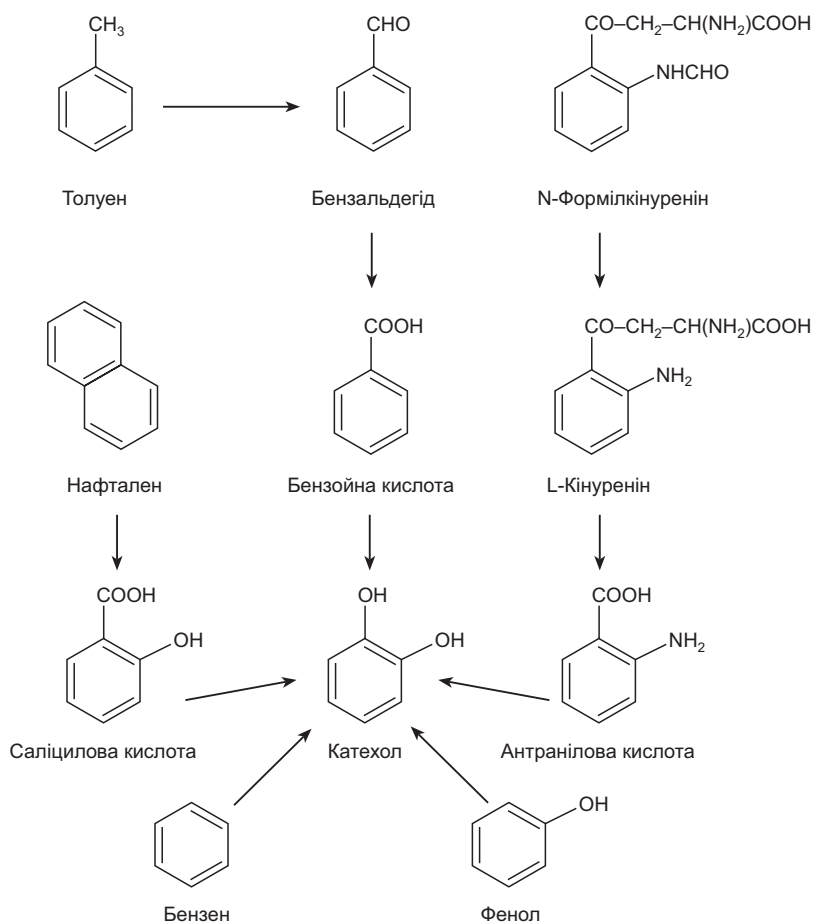
Ароматичні сполуки вперше знайшли практичне використання у хімічній промисловості в 50-х роках ХХ ст. [60, 61]. Враховуючи пластичність, адгезивність, виражені діелектричні властивості, стійкість до дії хімічних і фізичних чинників, вони одразу ж стали незамінними у нафтопереробній, коксохімічній, фармацевтичній, будівельній, деревообробній галузі та сільськогосподарському секторі. Згідно зі статистичними даними [54], попит на сполуки ароматичної природи щороку збільшується. З 1976 р. по 2008 р. потужність виробництва бензену у світі зросла з 19 до 46 млн т/рік, водночас аналітики прогнозують, що до 2020 р. цей показник становитиме близько 57 млн т/рік [38]. У стічних водах промислових підприємств вміст фенолів може становити понад 5–10 г/л, гранично допустима концентрація фенолів у питній воді та воді рибогосподарських водойм становить 1 мг/л. Такі сполуки як пірогалол чи гідрохінон досить поширені у побуті: пірогалол застосовують як проявник для фотоплівок, у виробництві дзеркал, у косметичній індустрії – як компонент фарб для волосся, у медицині – як антисептик; гідрохінон має відбілювальні властивості, застосовується у косметології [3, 5]. Ароматичні вуглеводні – толуен і ксилен – використовують для синтезу барвників, як розчинники лаків тощо. Усі ці сполуки є імунотоксикантами та канцерогенами, толуен і ксилен мають наркотичну дію [49].

Пошуки ефективних способів очищення довкілля від ароматичних сполук є актуальною проблемою сьогодення. Дедалі частіше перевагу надають біологічним

методам очищення забруднених територій, зокрема, за участю мікроорганізмів, які завдяки фізіологічним і генетичним особливостям швидко реагують на зміну складу середовища і на дію стресових факторів. Окремий вид організмів адаптується за допомогою включення одного або кількох механізмів індивідуальної резистентності. Мікроорганізми здатні утилізувати всі наявні у природі органічні речовини, причому необхідні для цього ферменти – індукцйбельні – синтезуються в їхніх клітинах у міру необхідності. Завдяки цьому мікроорганізми швидко реагують на наявність у середовищі нових хімічних сполук природного або антропогенного походження [52].

У попередній роботі описано центральні метаболічні шляхи розкладання ароматичних сполук [55]. Метою цієї роботи було детально розглянути периферичні шляхи розкладання ксенобіотиків ароматичної природи та перспективність використання мікробіологічного способу очищення забрудненого середовища.

**Аеробне розкладання ароматичних сполук.** Біодеградацію моно- та поліциклічних ароматичних сполук (рис. 1) здійснюють мікроорганізми за участю різних



**Рис. 1.** Біодеградація моно- та поліциклічних ароматичних сполук бактеріями роду *Pseudomonas* [59]

**Fig. 1.** Biodegradation of mono- and polycyclic aromatic compounds by bacteria of the *Pseudomonas* genus [59]

ферментів. Гени, які кодують ферменти цих біодеградативних шляхів, можуть бути локалізовані в хромосомній ДНК, хоча їх частіше виявляють у великих плазмідах (розміром від 50 до 200 kb). У деяких мікроорганізмів, зокрема, *Pseudomonas* sp., гени, які забезпечують розкладання нафталену, виявлено як у хромосомній, так і у плазмідній ДНК. Псевдомонади переважно перетворюють ксенобіотики ароматичної природи до катехолу, іноді – до протокатехоату, які внаслідок реакцій орто-чи мета-розщеплення розкладаються до ацетил-КоА і сукцинату, або до пірувату й ацетальдегіду [59].

Нафтален (поліциклічна ароматична сполука) – один із найпоширеніших ксенобіотиків, який катаболізується бактеріями *Pseudomonas putida* G7 і *P. putida* NCIB9816-4, *Ralstonia* sp. U2, *Rhodococcus opacus* R7 і *Rhodococcus* sp. NCIMB12038. Продуктами розщеплення нафталену *Rhodococcus* sp. NCIMB12038 є саліцилова та гентизинова кислоти. Гени, які детермінують синтез ферментів, задіяних у метаболізмі нафталену у *R. opacus* R7 і *Rhodococcus* sp. NCIMB12038 високо гомологічні, але мають різну організацію [39].

Бактерії *Pseudomonas* sp. розщеплюють нафтален до саліцилової кислоти, а потім – до катехолу. Катехол далі розщеплюється двома альтернативними шляхами: 1) мета-шляхом – з утворенням ацетальдегіду та пірувату й 2) орто-шляхом – з утворенням сукцинату і ацетату. Рідше саліцилову кислоту псевдомонади окиснюють шляхом утворення гентизинової кислоти. Нафталендеградувальні штами мікроорганізмів окиснюють катехол по орто-шляху або по орто- і мета-шляху одночасно. Здатність окиснювати ароматичні сполуки по мета-шляху розщеплення катехолу контролюється, як правило, плазмідними генами, тоді як орто-шляху – хромосомними. Нафталендіоксигеназа і низка інших ферментів метаболізму нафталену індуються у клітинах псевдомонад саліцилатами. У клітинах нафталендеградувальних бактерій *Pseudomonas* sp. 142NF, виділених із забрудненого нафтопродуктами ґрунту, виявлено плазмиду pNF142, яка забезпечує ефективну деструкцію нафти, мазуту і дизельного палива. Ці мікроорганізми входять до складу біопрепарату для очищення ґрунту від нафтопродуктів за низьких температур. Ключові ферменти розкладання нафталену і саліцилату – нафтален-1,2-діоксигеназа, саліцилатгидроксилаза, катехол-1,2-діоксигеназа, катехол-2,3-діоксигеназа [56].

Алкілзаміщені ароматичні сполуки з довгим аліфатичним ланцюгом окиснюються бактеріями родів *Pseudomonas*, *Nocardia* та *Mycobacterium* [53]. Аліфатичний ланцюг слугує джерелом карбону, фрагментуючись у процесі β-окиснення і редукується до одного, двох чи трьох атомів карбону. Відповідно, у середовищі нагромаджується бензойна чи фенілоцтова кислоти, в деяких випадках – фенілактилова [53].

Бактерії *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 можуть використовувати фенол як єдине джерело карбону та енергії. Крім того, ці мікроорганізми окиснюють формальдегід, який також наявний у фенолвмісних стічних водах промислових підприємств. Фенолгидроксилаза, що каталізує перетворення фенолу до катехолу у *R. erythropolis* UPV-1 – двокомпонентна флавінзалежна монооксигеназа [39]. Очищати середовище від хлорвмісних ароматичних сполук, використовуючи їх як джерело карбону, здатні бактерії родів *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* [44]. Хлорбензен перетворюється до 1-гідрокси-3-хлорбензену і 3-хлорпірокатехіну бактеріями *Pseudomonas* sp. (рис. 2).

Деградація *p*-хлортолуену бактеріями відбувається змішаним способом, тобто бічний ланцюг і ароматичне кільце окиснюються одночасно. Унаслідок окиснення

бічного ланцюга утворюються фенолкарбонові кислоти: 2,3-дигідрокси-*p*-хлорбензойна, 4-хлорсаліцилова і *p*-хлорбензойна, а руйнування ароматичного кільця приводить до утворення 2,3-дигідрокси-*p*-хлортолуену і 3-гідрокси-*p*-хлортолуену (рис. 2). На початкових стадіях деградації хлорбензену та хлортолуену відщеплення іонів хлору не відбувається, що вказує на їхню стійкість у складі продуктів трансформації. У разі перетворення галогенвмісних ароматичних сполук бактеріями утворюються сполуки, отримані внаслідок окиснення алкільного радикала по бічному ланцюгу та гідроксилування і розриву ароматичного кільця [44].

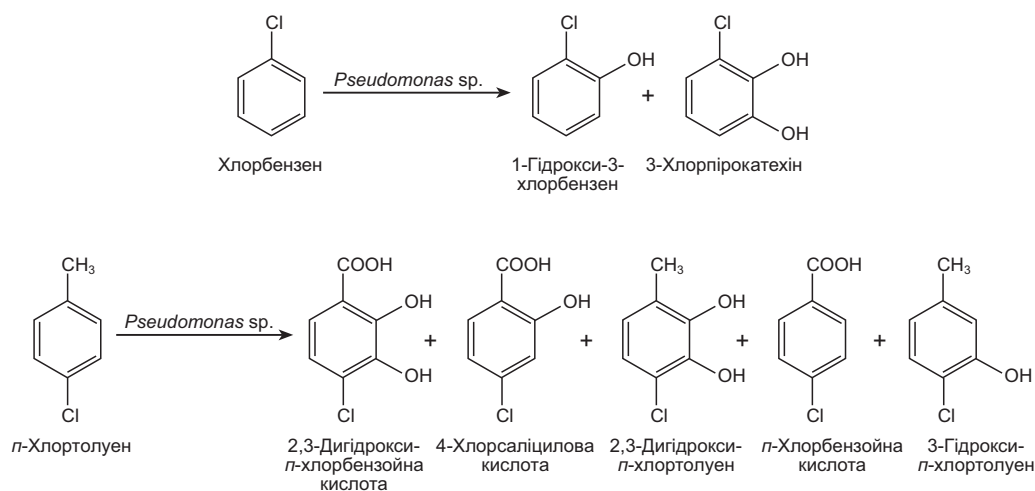


Рис. 2. Схема деградації хлорбензену та хлортолуену бактеріями *Pseudomonas* sp. [44]

Fig. 2. Scheme of degradation of chlorobenzene and chlorotoluene by *Pseudomonas* sp. bacteria [44]

Для підвищення ступеня біодеградації хлорфенолів використовують комбінований метод, який полягає у попередньому УФ-фотолізі хлорфенолів до легкоокиснювальних форм з подальшим біологічним обробленням. Ефективним способом деградації хлорфенолів є поєднання УФ-випромінювання ексілампки XeBr з подальшим використанням *Bacillus cereus* [32]. Унаслідок фотолізу 2-хлорфенолу та 2,4-дихлорфенолу утворюються 2-хлоргідрокінон і гідрокінон, відповідно. Як проміжні сполуки фотолізу 4-хлорфенолу утворюються гідрокінон і *p*-бензохінон. Ефективність окиснення хлорфенолів знижується у разі збільшення кількості атомів хлору в бензольному кільці чи їх розміщення в *o*-положенні. Відповідно, поліхлоровані феноли розкладаються важче, ніж монохлоровані. Під час розкладання хлорфенолів ключовими є реакції дехлорування і гідроксилування бензольного кільця [32].

**Анаеробне розкладання ароматичних сполук.** Деградація ароматичних сполук – складний, довготривалий процес, який у природних умовах залежить від біотичних і абіотичних чинників. Це детально описано на прикладі ароматичної амінокислоти тирозину. В мікробних асоціаціях тирозин перетворюється до фенолу та  $C_3$ -сполук мікроорганізмами. Цю реакцію каталізує тирозинфеноліаза. Мікробна асоціація окиснює  $C_3$ -сполуки. Утворений фенол пізніше метаболізується денітрифікувальними бактеріями, наприклад *Thauera aromatica*. Чиста культура



до 4-амінобензойної кислоти, яка надалі перетворюється до 4-амінобензоїл-КоА з подальшим відновним дезамінуванням до бензоїл-КоА, як у *T. aromatica* (рис. 4) [22, 46].

Ароматичні сполуки, які перетворюються по бензоїл-КоА шляху, повинні містити карбоксильну групу (тобто бути ароматичною кислотою) або карбоксилуватися з утворенням ароматичної кислоти на одному з перших етапів метаболізму. Таким способом відбувається руйнування фенолу, *o*-крезолу, катехолу і гідрохінону [22, 46]. Усі проміжні сполуки відновлювального бензоат-шляху є КоА-тіоефірами [22]. На рис. 5 представлено шляхи карбоксилування фенолу та прямого окиснення *l*-крезолу й етилбензену бактеріями [18].

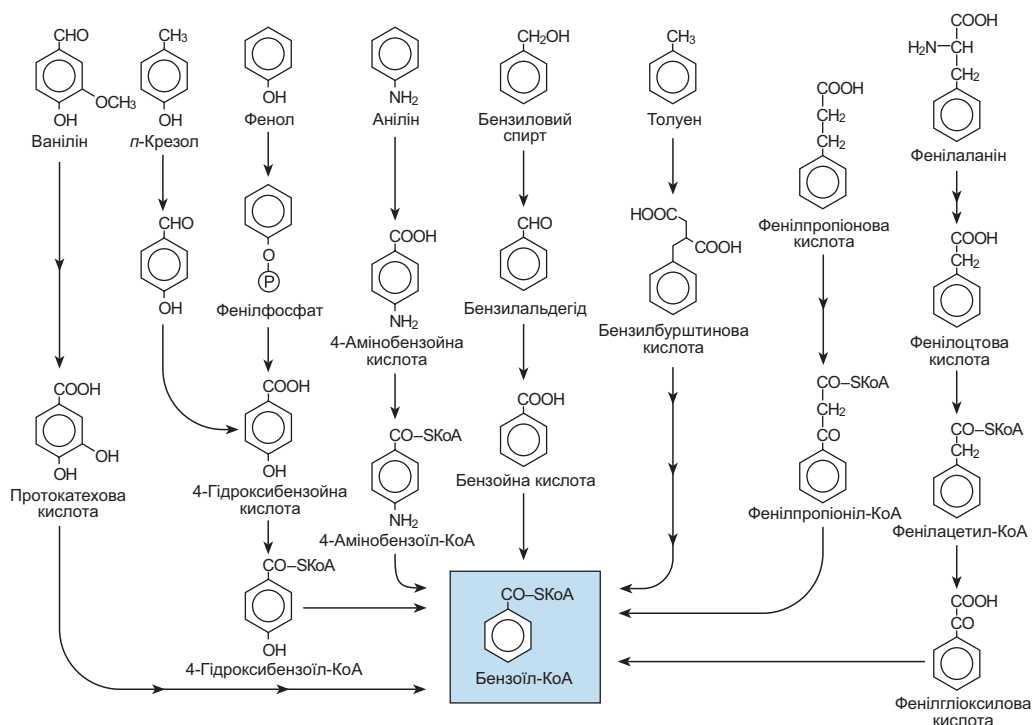


Рис. 4. Периферичні анаеробні шляхи перетворення деяких ароматичних сполук до бензоїл-КоА денітрифікувальними та фотосинтезувальними бактеріями [22]

Fig. 4. Peripheral anaerobic pathways of converting aromatic compounds to benzoyl-CoA by denitrifying and photosynthetic bacteria [22]

*l*-Крезол спочатку окиснюється до 4-гідроксибензоату і надалі до бензоїл-КоА, етилбензен безпосередньо окиснюється до бензоїл-КоА (рис. 5) [18].

**Деструкція фенолу та його похідних.** Аромосполуки з однією гідроксильною групою деградуються бактеріями по бензоїл-КоА шляху після карбоксилування. Процеси деградації фенолу сульфатвідновлювальними бактеріями досліджено недостатньо. Анаеробна деградація фенолу добре вивчена у *T. aromatica* і *Rhodospseudomonas palustris* [46]. Початкові етапи деградації фенолу до бензоїл-КоА денітрифікувальними бактеріями показано на рис. 6.

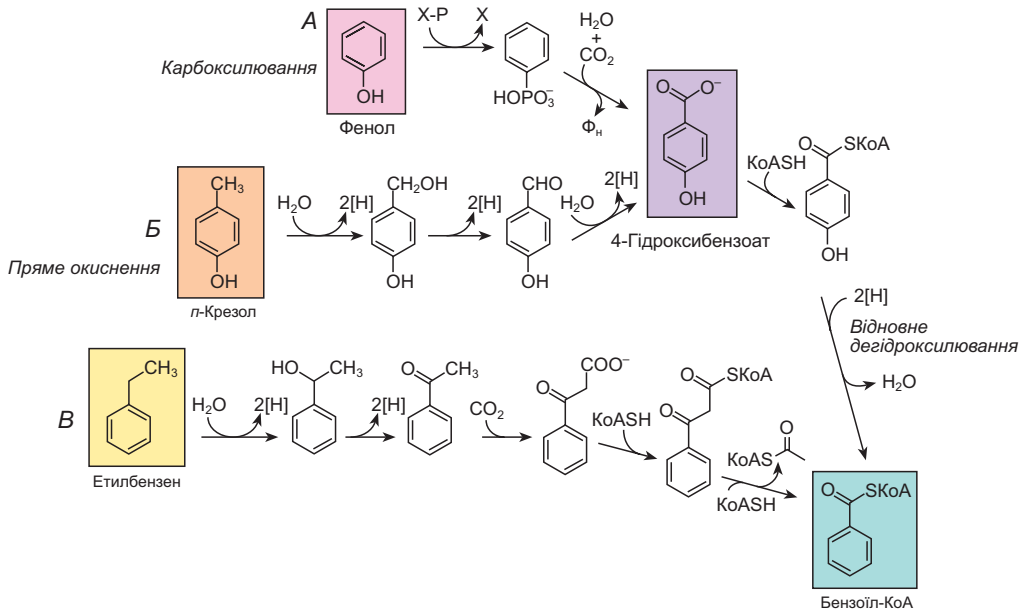


Рис. 5. Шляхи карбоксилювання та прямого окиснення фенолу, *p*-крезолу та етилбензену за участю мікроорганізмів [18]

Fig. 5. Pathways of carboxylation and direct oxidation of phenol, *p*-cresol and ethylbenzene with participation of microorganisms [18]

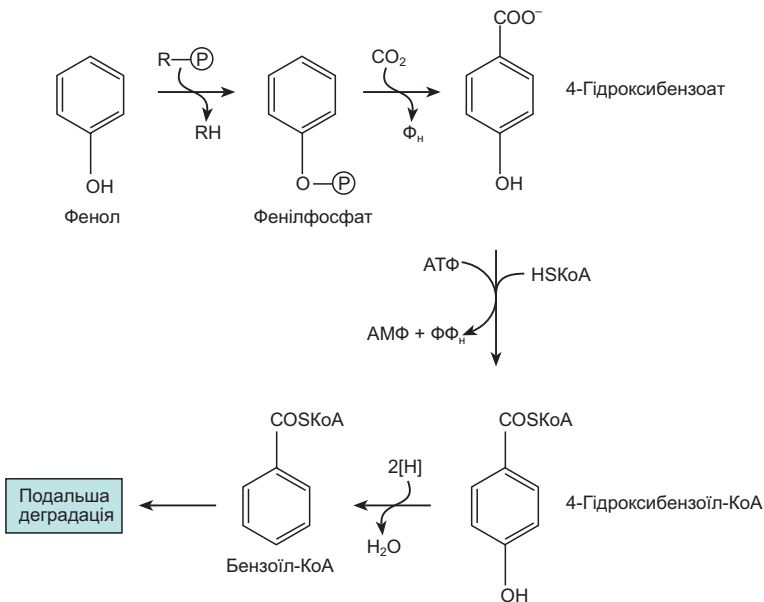


Рис. 6. Початкові етапи деградації фенолу денітрифікувальними бактеріями *Thauera aromatica*. R – невідомий донор фосфорної групи [46]

Fig. 6. Initial stages of degradation of phenol by denitrifying bacteria *Thauera aromatica*. R – unknown donor of the phosphorus group [46]



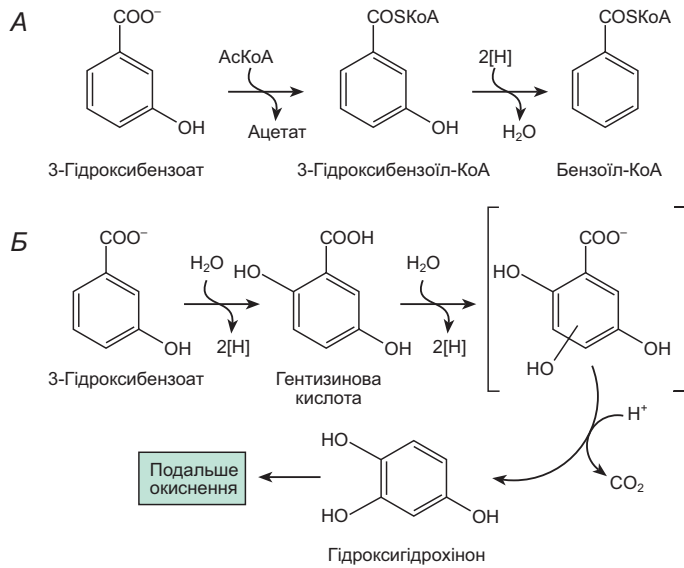
Під час перетворення фенолу до бензоїл-КоА утворюються три проміжні сполуки: фенілфосфат, 4-гідроксибензоат і 4-гідроксибензоїл-КоА [22]. Фенол фосфорилується до фенілфосфату у екзергонічній реакції [29]. Пара-карбоксілювання фенілфосфату до 4-гідроксибензоату є ендергонічною реакцією, відомою в хімії як реакція Кольбе–Шмітта. 4-Гідроксибензоат за участю специфічної КоА-лігази [16] перетворюється до 4-гідроксибензоїл-КоА, який надалі дегідроксильується до бензоїл-КоА 4-гідроксибензоїл-КоА-редуктазою. Донором електронів є ферредоксин [11, 17]. Бродильні бактерії можуть також декарбоксілювати 4-гідроксибензоат та його похідні до фенольних сполук і  $\text{CO}_2$  за участю 4-гідроксибензоатдекарбоксілази [23]. Цей фермент може також здійснювати реакції карбоксілювання за високих концентрацій фенолу і  $\text{CO}_2$  без 4-гідроксибензоату [22].

4-Гідроксибензоат, який є проміжним продуктом розкладання фенолу, може зброджуватися бактеріями. Нагромаджувальними культурами метаногенних бактерій він швидко декарбоксілюється до фенолу, який потім повільно деградується до метану і  $\text{CO}_2$ . Декарбоксілювати 4-гідроксибензоат до фенолу можуть бактерії *Clostridium hydroxybenzoicum* [46]. Утворений фенол *C. hydroxybenzoicum* деградує не повністю [18]. 4-Гідроксибензоат лише кометаболізується бактеріями *C. hydroxybenzoicum* під час зброджування амінокислот і не слугує джерелом карбону або енергії [46].

3-Гідроксибензоат порівняно з 4-гідроксибензоатом стабільніший і не декарбоксілюється спонтанно. Є гіпотеза, згідно з якою гідроксильна група 3-гідроксибензоату видаляється редуційно для подальшої деградації по бензоїл-КоА шляху. Експериментальне підтвердження цієї гіпотези отримано внаслідок досліджень бактерій *Sporotomaculum hydroxybenzoicum* [10]. Безклітинні екстракти *S. hydroxybenzoicum* редутивно дегідроксильують 3-гідроксибензоїл-КоА (рис. 7, А) [36]. Інший спосіб анаеробної деградації 3-гідроксибензоату описано у нітратвідновлювальних бактерій штаму VoNHV. Ці мікроорганізми окиснюють 3-гідроксибензоат до гентизинової кислоти (2,5-дигідроксибензойної кислоти) і, ймовірно, після цього відбувається подальше гідроксілювання та декарбоксілювання з утворенням гідроксигідрохінону (ННQ) (рис. 7, Б) [36, 46].

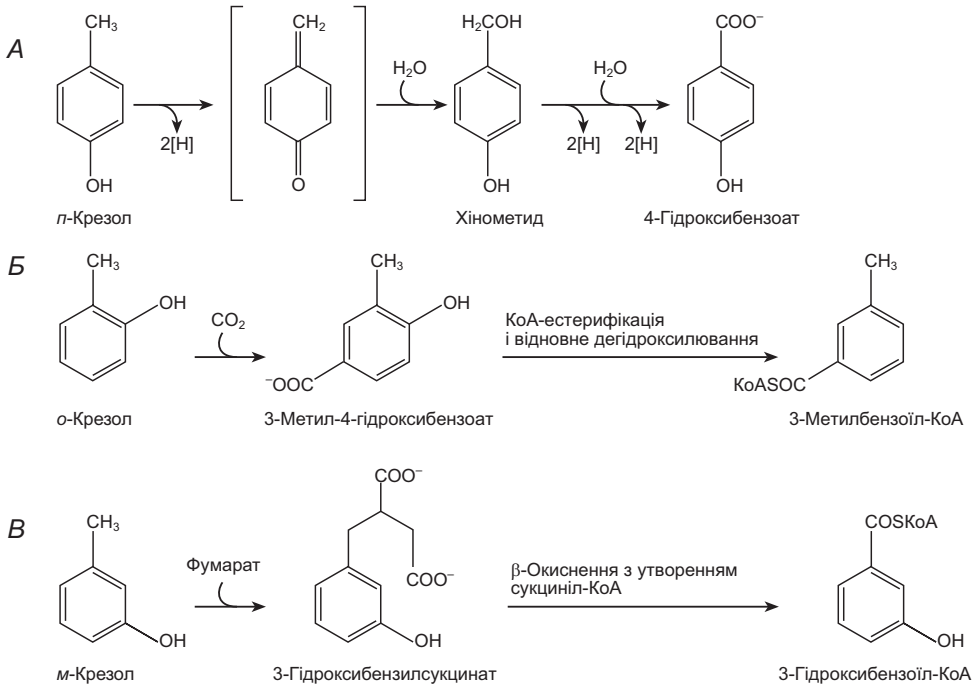
2-Гідроксибензойна кислота (саліцилова кислота) редується подібно до 4-гідроксибензоату в реакції КоА-естерифікації та відновного дегідроксілювання з утворенням бензоїл-КоА [9].

Крезолі (метилфеноли) деградує бактеріями за анаеробних умов різними шляхами, залежно від розміщення гідроксигрупи. *p*-Крезол гідроксілюється по метильній групі в окиснен-незалежній реакції, ймовірно, через утворення проміжної сполуки – хінометиду, до 4-гідроксибензоату. Такий шлях деградації раніше було описано Хоппером та ін. для аеробних мікроорганізмів роду *Pseudomonas* (рис. 8, А) [26]. Окисно-відновний потенціал цієї реакції становить +100 мВ, тому така реакція у нітратвідновлювальних бактерій відбувається легко [46]. *o*-Крезол карбоксілюється до 3-метил-4-гідроксибензоату (рис. 8, Б) [8]. Деструкція *m*-крезолу нагромаджувальною культурою бактерій за наявності сульфату починається з реакції карбоксілювання. Деградація *m*-крезолу за анаеробних умов досліджена у сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfobacterium cetonicum* [46]. Розкладання *m*-крезолу за цих умов відбувається аналогічно до анаеробного розкладання толуену нітратвідновлювальними бактеріями [36]. До метильної групи *m*-крезолу приєднується фумарат з утворенням 3-гідроксибензилсукцинату, який надалі перетворюється до 3-гідроксибензоїл-КоА з вивільненням сукциніл-КоА (рис. 8, В) [46].



**Рис. 7.** Початкові етапи анаеробної деградації 3-гідроксибензоату бактеріями *Sporotomaculum hydroxybenzoicum* (А) та нітратвідновлювальними бактеріями *BoNHb* (Б) [46]

**Fig. 7.** The initial stages of an anaerobic degradation of 3-hydroxybenzoate by *Sporotomaculum hydroxybenzoicum* bacteria (А) and nitrate-reducing bacteria *BoNHb* (Б) [46]



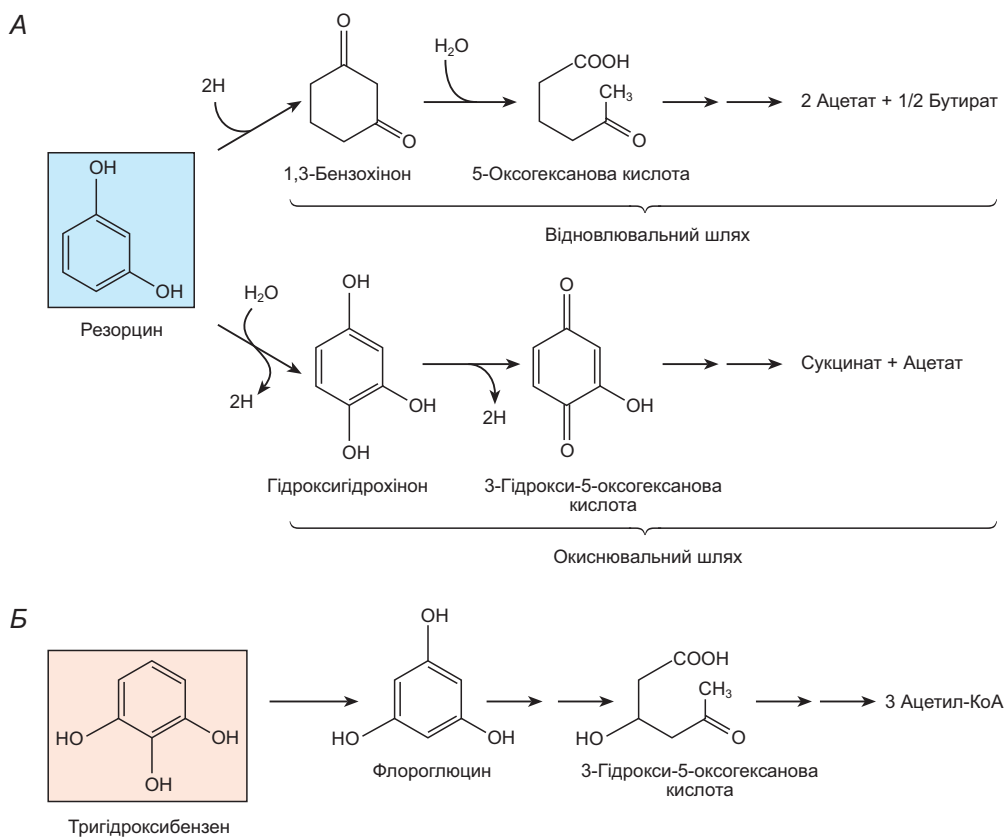
**Рис. 8.** Початкові етапи деструкції *p*-крезолу (А), *o*-крезолу (Б), *m*-крезолу (В) мікроорганізмами за анаеробних умов [46]

**Fig. 8.** Initial stages of destruction of *p*-cresol (А), *o*-cresol (Б), *m*-cresol (В) by microorganisms under anaerobic conditions [46]

Отже, залежно від розміщення гідроксильної групи в молекулах крезолу периферичні шляхи їхнього окиснення суттєво відрізняються, але зазвичай вони приводять до утворення бензоїл-КоА. Шлях деградації бензоїл-КоА детально описано у першій частині огляду [55].

**Деструкція ди- та тригідроксибензенів.** Ароматичні сполуки з двома або більше гідроксильними групами менш стабільні та легше піддаються деградації мікроорганізмами. Розкладання цих сполук не завжди пов'язано з карбоксилуванням як початковим етапом, а подальші процеси гідроксилування або перегрупування забезпечують зниження стійкості бензольного кільця [46].

Моногідроксильовані та деякі дигідроксильовані аромосполуки також перетворюються до бензоїл-КоА [18]. Дигідроксильовані сполуки, такі як резорцин, можуть розщеплюватися мікроорганізмами окиснювальним або відновлювальним шляхами, внаслідок яких бензоїл-КоА не утворюється (рис. 9, А). Проміжними сполуками окиснювального шляху перетворення резорцину є гідроксигідрохінон, 3-гідрокси-1,4-бензохінон та ін., кінцевими – сукцинат і ацетат. Унаслідок відновлювального шляху деградації резорцину утворюється 1,3-бензохінон, який гідратується з утворенням 5-оксогексанової кислоти, кінцевими продуктами розщеплення є ацетат і бутират [18].



**Рис. 9.** Анаеробні шляхи біодеградації резорцину (А) та тригідроксибензену (Б) [18]

**Fig. 9.** Anaerobic pathways of biodegradation of resorcinol (A) and trihydroxybenzene (B) [18]

Початкові етапи деградації тригідроксибензену показані на рис. 9, Б. Унаслідок руйнування цієї ароматичної сполуки утворюється ацетил-КоА, проміжні продукти – флороглюцин і 3-гідрокси-5-оксогексанова кислота.

За наявності в ароматичному кільці більше одного гідроксильного залишку дестабілізація кільця може відбуватися шляхом таутомеризації, іноді після приєднання інших гідроксильних груп. Таутомеризовані проміжні сполуки потім можуть окиснюватись і відновлюватись (рис. 9), що приводить до розриву кільця. Наявність і природа електронного акцептора, що використовується мікроорганізмами, визначають кінцеві продукти деградації [18].

Шлях деградації гідрохінону досліджено у сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfococcus* sp. [19] та бродильних бактерій *Syntrophus gentianae* [20]. В обох випадках гідрохінон спочатку карбоксилується до гентизинової кислоти. Гентизинова кислота активується з утворенням гентизил-КоА, який у *S. gentianae* відновно дегідроксилується до бензоїл-КоА, який надходить у модифікований бензоїл-КоА шлях (рис. 10, А). Дегідроксилування двох ОН-груп гентизил-КоА відбувається в один етап. У *Desulfococcus* sp. гентизил-КоА не редукується до бензоїл-КоА, продукти перетворення гентизил-КоА невідомі [46].

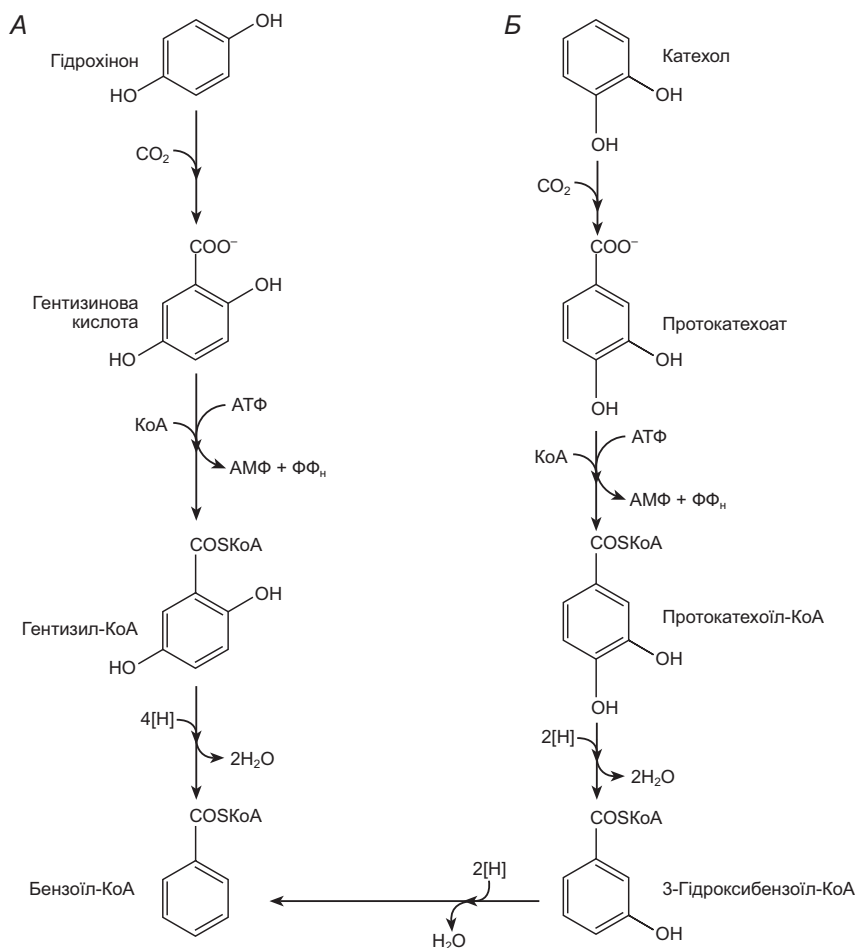
Деградація катехолу – основної проміжної сполуки розщеплення ароматичних сполук за аеробних умов – довготривалий процес за анаеробних умов. Катаболізм катехолу детально досліджено лише у сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfobacterium* sp., які карбоксилують катехол до протокатехоату [21]. Протокатехоат активується з утворенням протокатехоїл-КоА, який далі дегідроксилується через 3-гідроксибензоїл-КоА до бензоїл-КоА (рис. 10, Б) [46].

Серед трьох ізомерів тригідроксибензену пірогалол і флороглюцин ефективно розкладаються чистою культурою бродильних бактерій. Детально досліджено деградацію флороглюцину у *Eubacterium oxidoreducens* та *Pelobacter acidigallici*. Флороглюцин за участю НАДФН-залежної редуктази перетворюється до дигідрофлороглюцину (рис. 11) [12]. Гідроліз кільця приводить до утворення 3-гідрокси-5-оксогексанової кислоти, яка через 3,5-діоксогексанову кислоту тіолітично розщеплюється і приводить до утворення трьох молекул ацетил-КоА [12]. Розташування трьох гідроксильних груп у 1,3,5-положенні в ароматичному кільці дає змогу таутомеризуватися до 1,3-діоксо-5-гідроксициклогексану [46].

Пірогалол не гідролізується безпосередньо, але ізомеризується до флороглюцину в реакції трансгідроксилування [13]. Реакція потребує 1,3,4,5-тетрагідроксибензену як косубстрату, трансгідроксилаза переносить гідроксильну групу з тетрагідроксибензену на пірогалол з утворенням флороглюцину як основного продукту і тетрагідроксибензену як копродукту (рис. 12) [13]. Трансгідроксилаза, яка містить залізо-сірковий центр і кофактор молібдоптерин, імовірно, є переносником гідроксильної групи через зміну валентності в молібдені [41, 42].

Інший тригідроксибензолний ізомер – гідроксигідрохінон окиснюється бродильними бактеріями *Pelobacter massiliensis* через утворення флороглюцину до трьох молекул ацетату (див. рис. 11). Для ізомеризації до флороглюцину необхідно є реакція трансгідроксилування [46].

У нітрат- і сульфатвідновлювальних мікроорганізмів описано інші шляхи розкладання гідроксигідрохінону. Нітратвідновлювальні бактерії окиснюють гідроксигідрохінон до ацетату й сукцинату [46].



**Рис. 10.** Початкові етапи розкладання гідрохінону (А) та катехолу (Б) сульфатвідновлювальними і бродильними бактеріями [46]

**Fig. 10.** The initial stages of decomposition of the hydroquinone (A) and catechol (B) by sulfate-reducing bacteria and fermenting bacteria [46]

Сульфатвідновлювальні бактерії *Desulfovibrio inopinatus* метаболізують гідроксигідрохінон відповідно до рівняння:



На першому етапі деградації бактеріями *D. inopinatus* гідроксигідрохінон дестабілізується відновленням до дигідрогідроксигідрохінону. Унаслідок подальших перетворень утворюються ацетат і дві молекули  $\text{CO}_2$  [43, 46].

Енергетичний обмін у різних видів анаеробних бактерій відображається у продуктах метаболізму: бродильні бактерії продукують великі кількості ацетату і продукують 2 АТФ/моль гідроксигідрохінону за участю фосфотрансацетилази й ацетаткінази. Сульфатвідновлювальні бактерії отримують енергію у процесі сульфатного дихання, окиснюючи органічні речовини до ацетату або вуглекислого газу і води.

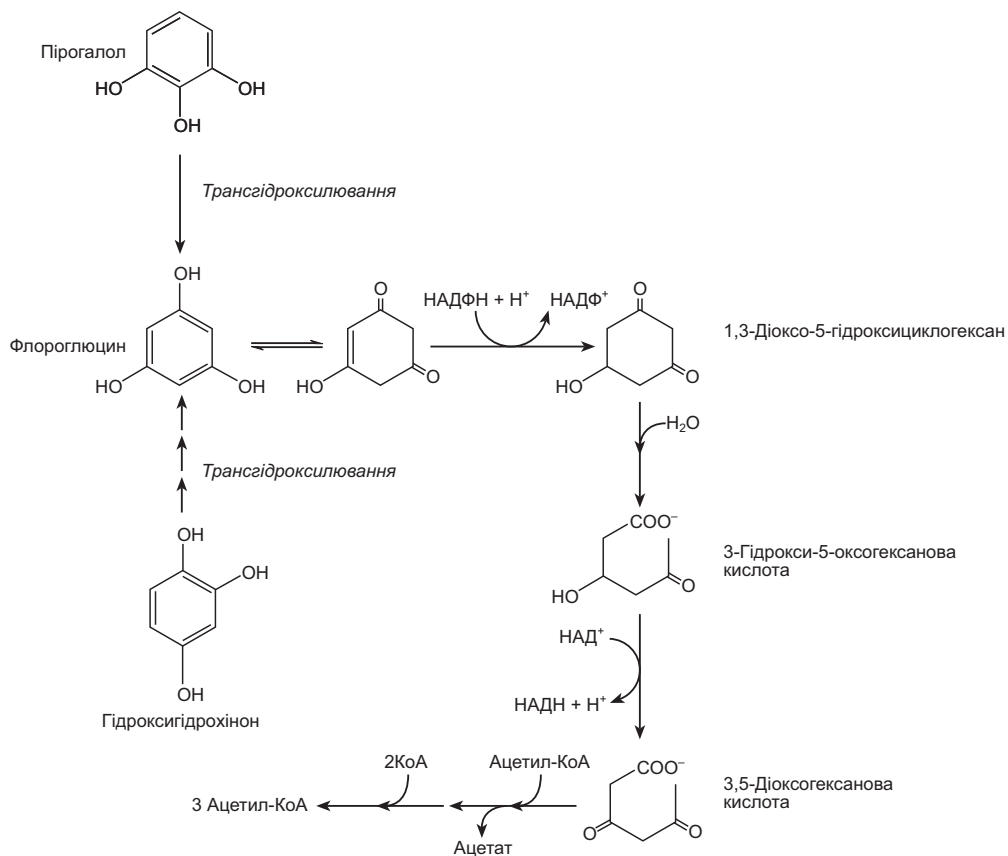


Рис. 11. Деградація ізомерів тригідроксибензену бродильними бактеріями [12]

Fig. 11. Degradation of isomers of trihydroxybenzenes by fermenting bacteria [12]

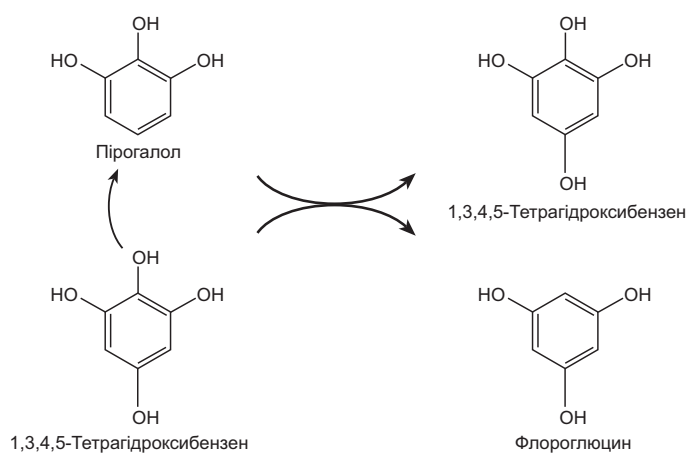
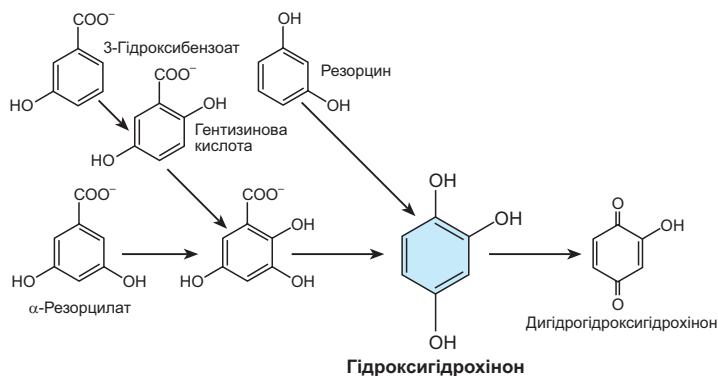


Рис. 12. Пірогалол-флороглюцин трансгідроксилазна реакція у *Pelobacter acidigallici* [46]

Fig. 12. Pyrogallol-phloroglucinol transhydroxylase reaction in *Pelobacter acidigallici* [46]

Нітратвідновлювальні бактерії отримують більшу частину своєї енергії внаслідок окиснення залишків ацетилю й утворюють лише  $\text{CO}_2$  як кінцевий продукт [46].

У 1998 р. Б. Шінк і співавт. описали новий шлях розкладання ароматичних сполук, у якому гідроксигідрохінон є центральною проміжною сполукою. По цьому шляху нітратвідновлювальні бактерії розкладають резорцин,  $\alpha$ -резорцилат, 3-гідроксибензоат, гентизинову кислоту і, можливо, гідрохінон, у реакціях гідроксилування та декарбоксілювання (рис. 13) [46].



**Рис. 13.** Гідроксигідрохіноновий шлях деградації ароматичних сполук нітратвідновлювальними бактеріями за анаеробних умов [46]

**Fig. 13.** Hydroxyhydroquinone pathway of degradation of aromatic compounds by nitrate-reducing bacteria under anaerobic conditions [46]

Отже, шлях гідроксигідрохінону має важливе значення у перетворенні фенольних сполук бродильними, нітратвідновлювальними та сульфатвідновлювальними бактеріями [46].

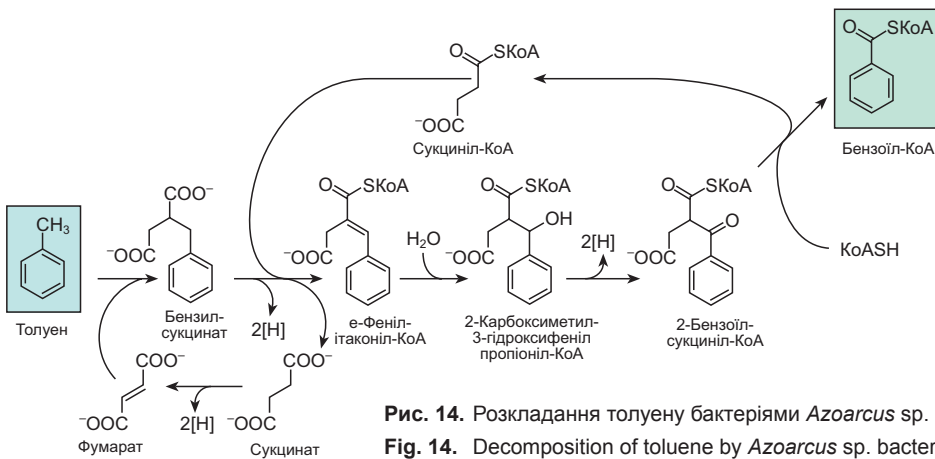
Галова кислота (3,4,5-тригідроксибензойна кислота) – міститься у дубових галах і утворюється внаслідок розкладання лігніну або таніну [46]. Вона швидко декарбоксілюється до пірогалолу бактеріями *E. oxidoreducens* і *P. acidigallici* [12]. Інші ізомери тригідроксибензоату також відіграють роль проміжних сполук у деградації  $\alpha$ -резорцилату й, можливо, гентизинової кислоти [46].

**Деструкція ароматичних вуглеводнів.** У зв'язку з високою мобільністю і здатністю утворювати забруднювальні шлейфи у водоносних пластах вуглеводні нафти є одними з найпоширеніших забруднювачів підземних вод [35]. Потенційна токсичність і забрудненість доквілля ароматичними вуглеводнями є причиною масштабних досліджень можливості розкладання цих сполук. Проведено багато досліджень щодо використання анаеробними мікроорганізмами моноароматичних сполук групи БТЕК – бензену, толуену, етилбензену та ксилену. Початкові етапи перетворення ароматичних сполук групи БТЕК різними мікроорганізмами приводять до утворення бензоіл-КоА, який надалі розкладається по бензоіл-КоА шляху [18].

З компонентів БТЕК толуен найлегше зазнає біодеструкції за анаеробних умов [24, 30, 40, 50]. Унаслідок деградації толуену, *o*- та *p*-ксилену бактеріями у середовищі виявляють бензилсукцинат, бурштинову кислоту і 4-метилбензойну кислоту (або *p*-толуенову кислоту) [24]. У клітинах *Thauera* sp. і *Azoarcus* sp., а також сульфатвідновлювальних бактерій початковим етапом деструкції толуену є його конденсація

з фумаратом, що приводить до утворення бензилсукцинату [28]. Конденсація толуену з фумаратом – загальна реакція, яка також використовується для активації інших метильованих ароматичних сполук, наприклад, ксилену [6, 15, 28], *m*- та *p*-крезолу [36, 37] і метилнафталену [2].

Перетворення бензилсукцинату до КоА-тіоефіру каталізується КоА-трансферазою. Найімовірніше, що бензилсукциніл-КоА окиснюється до *e*-фенілітаконіл-КоА за участю бензилсукциніл-КоА-дегідрогенази. Наступними реакціями перетворення толуену є гідратація *e*-фенілітаконіл-КоА до 2-карбоксиметил-3-гідрокси-фенілпропіоніл-КоА, який надалі окиснюється до бензоїлсукциніл-КоА і тіолітично розщеплюється до бензоїл-КоА та сукциніл-КоА (рис. 14). Бензоїл-КоА далі деградується по бензоїл-КоА шляху [24].

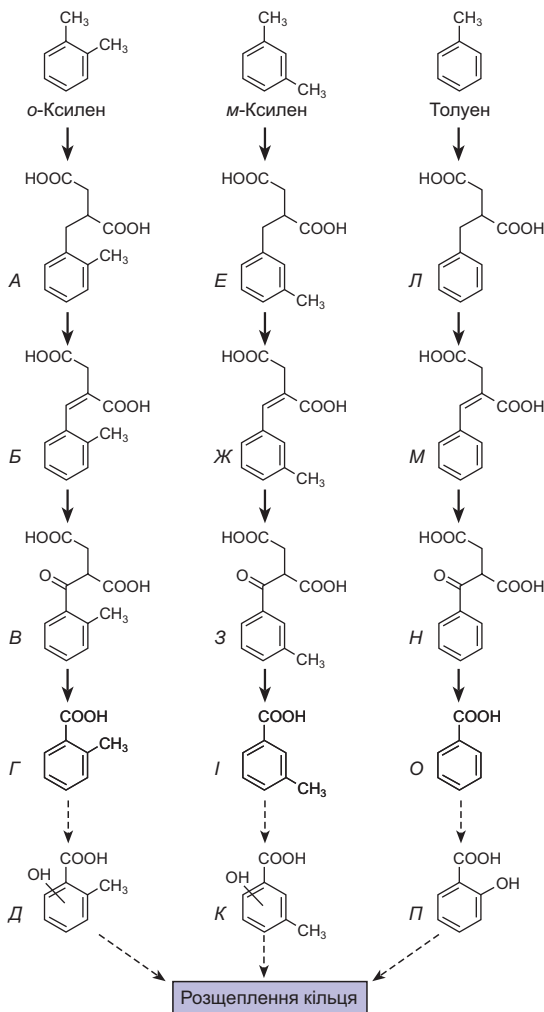


Сульфатвідновлювальні бактерії штаму PRTOL1, виділені із забрудненого паливом ґрунту, здатні розкласти ароматичні вуглеводні – толуен і ксилен. Цей штам може використовувати толуен як єдиний донор електронів і джерело карбону за анаеробних умов. Штам PRTOL1 перетворює 80 % карбону толуену до  $\text{CO}_2$ , а також здатний розщеплювати *o*- і *p*-ксилен за наявності в середовищі толуену. Перетворення ксилену штамом PRTOL1 відбувається значно повільніше, ніж процес розкладання толуену. Виявлено пряму залежність між відновленням сульфату й використанням толуену [7].

*m*-Ксилен легше піддається біодеструкції, ніж *o*- чи *p*-ксилен. Підтвердженням цього були результати дослідження щодо використання *m*-ксилену сульфатвідновлювальними бактеріями *Desulfotomaculum* OX39 (рис. 15) [35]. За одночасної наявності *m*- та *o*-ксилену в середовищі у однаковій концентрації бактерії *Desulfotomaculum* OX39 спочатку розкладали *m*-ксилен. Після повного вичерпання *m*-ксилену мікроорганізми використовували *o*-ксилен. Після повторного внесення суміші цих ізомерів розщеплення *o*-ксилену інгібується за наявності *m*-ксилену. За внесення толуену в невеликих концентраціях (15–20  $\mu\text{M}$ ) до середовища культивування бактерій, які попередньо вирощувалися з *m*- чи *o*-ксиленом, деградація *m*-ксилену не припинялася, тоді як деградація *o*-ксилену за цих умов пригнічувалася. Після використання *m*-ксилену штам OX39 розкладав толуен [35].



Деградація бензойної кислоти сульфатвідновлювальними бактеріями штаму ОХ39, попередньо вирощеними у середовищі з бензойною кислотою, починалася після 2–3-х тижнів культивування, а культурою, попередньо вирощеною у середовищах з *o*- та *m*-ксиленом, – лише через 60 діб [35].



**Рис. 15.** Шляхи анаеробної деградації *m*- та *o*-ксилену, толуену сульфатвідновлювальними бактеріями штаму ОХ39: *A* – 2-метилбензилбурштинова кислота; *B* – 2-метилфенілітаконова кислота; *B* – 2-метилбензоїлбурштинова кислота; *Г* – *o*-толуєнова кислота; *Д, К* – метилсаліцилова кислота; *E* – 3-метилбензилбурштинова кислота; *Ж* – 3-метилфенілітаконова кислота; *З* – 3-метилбензоїлбурштинова кислота; *I* – *m*-толуєнова кислота; *Л* – бензилбурштинова кислота; *М* – фенілітаконова кислота; *H* – бензоїлбурштинова кислота; *O* – бензойна кислота; *П* – саліцилова кислота [35]

**Fig. 15.** Pathways of anaerobic degradation of *m*- and *o*-xylene, toluene with sulfate-reducing bacteria of the strain ОХ39: *A* – 2-methylbenzylsuccinic acid; *B* – 2-methylphenylitaconic acid; *B* – 2-methylbenzoylsuccinic acid; *Г* – *o*-toluic acid; *Д, К* – methylsalicylic acid; *E* – 3-methylbenzylsuccinic acid; *Ж* – 3-methylphenylitaconic acid; *З* – 3-methylbenzoylsuccinic acid; *I* – *m*-toluic acid; *Л* – benzylsuccinic acid; *М* – phenylitaconic acid; *H* – benzoylsuccinic acid; *O* – benzoic acid; *П* – salicylic acid [35]

Етилбензен менш ефективно деградується бактеріями. Він може слугувати джерелом карбону і енергії для сульфат- і нітратвідновлювальних бактерій. Максимальна швидкість росту низька; час подвоєння клітин за таких умов 30–48 год. Етилбензен окиснюється до 1-фенілетанолу і надалі – до бензоїл-КоА (див. рис. 5) [18].

У забруднених ґрунтах і водоносних горизонтах концентрація бензену знижується одночасно разом із ферумом (III), нітратом чи сульфатом [1, 31]. На сьогодні бензенруйнівальні бактерії не виділені в чисті культури, що виключає можливість проведення біохімічних досліджень. Дж. Д. Коутс та ін. [14] виявили, що два штами *Dechloromonas*, виділені з різних біотопів, можуть рости використовуючи бензен як єдине джерело карбону, за наявності нітрату як акцептора електронів [18].

Більшість досліджень із мобілізації нафталену та подібних за будовою сполук за анаеробних умов проводять із нагромаджувальними культурами мікроорганізмів [2, 33, 51]. На перших етапах розкладання приєднується карбоксильна група до карбону у другому положенні одного кільця нафталену [33, 58]. Некарбоксильоване кільце редукується в реакціях, аналогічних до реакцій розкладання бензоїл-КоА. Розкладання 2-метилнафталену ініціюється додаванням фумарату [2, 18].

Отже, мікроорганізми здатні до анаеробної деструкції ароматичних вуглеводнів за наявності сульфату чи нітрату як кінцевого акцептора електронів. Початковими етапами розкладання толуену та деяких інших метильованих ароматичних вуглеводнів є їхня взаємодія з фумаратом. Периферичні шляхи розкладання ароматичних вуглеводнів приводять до утворення бензоїл-КоА, який надалі метаболізується в центральному бензоїл-КоА шляху.

## ВИСНОВОК

Потенційна токсичність і забрудненість довкілля ароматичними сполуками сприяє інтенсифікації досліджень щодо можливостей розкладання цих сполук. Очищення забрудненого середовища за участю мікроорганізмів є доволі ефективним, безпечним і економічним способом очищення. Бактерії здатні метаболізувати всі органічні сполуки, що наявні у природньому середовищі. Розкладання сполук із бензольним ядром можливе за аеробних і анаеробних умов. Початкові етапи деструкції ароматичних сполук є доволі різноманітними. За аеробних умов ароматичні сполуки метаболізують бактерії родів *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* та ін. За анаеробних умов розкладання цих сполук відбувається за участю сульфатвідновлювальних, нітратвідновлювальних і бродильних бактерій.

Деградація ароматичних сполук бактеріями за анаеробних умов відбувається за наявності у середовищі йонів сульфату, нітрату, карбонату і застосування їх як акцепторів електронів. Дослідження цих анаеробних процесів дає змогу використовувати мікроорганізми в очищенні середовищ від забруднювальних речовин різної природи. Практичне застосування мікроорганізмів у очищенні середовища від ксенобіотиків може бути ефективним у зв'язку з наявністю бактерій у складі активного мулу системи очищення стічних вод. Крім того, можливість використання мікроорганізмів у біоремедіації навколишнього середовища пов'язане з виготовленням біопрепаратів цільового призначення з метою очищення водного і ґрунтового середовищ від ароматичних сполук.

Ароматичні сполуки негативно впливають на фізіологічний стан усіх організмів – від бактерій до організму людини, внаслідок мутагенної та канцерогенної дії.

Ця робота дає змогу частково зрозуміти процеси деструкції ароматичних ксенобіотиків за участю мікроорганізмів, що надалі відкриває можливості розроблення різних методів біоремедіації довкілля.

1. Anderson R.T., Lovley D.R. Anaerobic bioremediation of benzene under sulfate-reducing conditions in a petroleum-contaminated aquifer. **Environ. Sci. Technol.**, 2000; 34 (11): 2261–6. [DOI: <https://doi.org/10.1021/es991211a>], [Google Scholar]
2. Annweiler E., Materna A., Safinowski M., Kappler A., Richnow H.H. et al. Anaerobic degradation of 2-methylnaphthalene by a sulfate-reducing enrichment culture. **Appl. Environ. Microbiol.**, 2000; 66: 5329–33. [DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.66.12.5329-5333.2000>], [Google Scholar]
3. Antonyuk V.S., Timchik G.S., Bondarenko Yu.Yu., Kovalenko Yu.I., Bondarenko M.O., Gaidash R.P., Filippova M.V. Coverage in instrument making. Kyiv: NTUU "KPI". Publishing House "Politekhnik", 2016. 360 p. (In Ukrainian).
4. Auburger G., Winter J. Purification and characterisation of benzoyl-CoA synthetase from a syntrophic, benzoate degrading, anaerobic mixed culture. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 1992; 37: 789–795. [DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00174847>], [Google Scholar]
5. Bardova E.A., Bardov P.V., Kolyadenko V.G. New perspective methods in cosmetology. **Ukrainian Journal of Dermatology, Venerology, Cosmetology**, 2004; 4: 56–60. (In Ukrainian). [Google Scholar]
6. Beller H. R., Spormann A. M. Substrate range of benzylsuccinate synthase from *Azoarcus* sp. strain T. **FEMS. Microbiol. Lett.**, 1999; 178: 147–53. [DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13771.x>], [Google Scholar]
7. Beller H. R., Spormann A. M., Sharma P. K. et al. Isolation and Characterization of a Novel Toluene-Degrading Sulfate-Reducing Bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, 1996; 62: 1188–1196. [Google Scholar]
8. Bissailon J.G., Lépine F., Beaudet R., Sylvestre M. Carboxylation of *o*-cresol by an anaerobic consortium under methanogenic conditions. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1991; 57: 2131–2134. [Google Scholar]
9. Bonting C.F.C., Fuchs G. Anaerobic metabolism of 2-hydroxybenzoic acid (salicylic acid) by a denitrifying bacterium. **Arch. Microbiol.**, 1996; 165: 402–408. [DOI: <https://doi.org/10.1007/s002030050344>], [Google Scholar]
10. Brauman A., Müller J. A., Garcia J-L., Brune A., Schink B. Fermentative degradation of 3-hydroxybenzoate in pure culture by a novel strictly anaerobic bacterium, *Sporotomaculum hydroxybenzoicum* gen. nov. sp. nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, 1998; 48: 215–221. [DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-48-1-215>], [Google Scholar]
11. Breese K., Fuchs G. 4-Hydroxybenzoyl-CoA reductase (dehydroxylating) from the denitrifying bacterium *Thauera aromatica*: prosthetic groups, electron donor, and genes of a member of the molybdenum-flavin-iron-sulfur proteins. **Eur. J. Biochem.**, 1998; 251: 916–923. [DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2510916.x>], [Google Scholar]
12. Brune A., Schink B. Phloroglucinol pathway in the strictly anaerobic *Pelobacter acidigallici*: fermentation of trihydroxybenzenes to acetate via triacetic acid. **Arch. Microbiol.**, 1992; 157: 417–424. [DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00249098>], [Google Scholar]
13. Brune A., Schink B. Pyrogallol-to-phloroglucinol conversion and other hydroxyl-transfer reactions catalyzed by cell extracts of *Pelobacter acidigallici*. **J. Bacteriol.**, 1990; 172: 1070–1076. [DOI: [10.1128/jb.172.2.1070-1076.1990](https://doi.org/10.1128/jb.172.2.1070-1076.1990)], [Google Scholar]

14. Coates J.D., Chakraborty R., Lack J.G., O'Connor S.M., Cole K. A. et al. Anaerobic benzene oxidation coupled to nitrate reduction in pure culture by two strains of *Dechloromonas*. **Nature**, 2001; 411: 1039–43.  
[Google Scholar]
15. Elshahed M.S., Gieg L.M., McInerney M.J., Sufliya J.M. Signature metabolites attesting to the in situ attenuation of alkylbenzenes in anaerobic environments. **Environ. Sci. Technol**, 2001; 35(4): 682–89.  
[DOI: <https://doi.org/10.1021/es001571u>], [Google Scholar]
16. Gibson J., Dispensa M., Fogg G. C., Evans D. T., Harwood C. S. 4-Hydroxybenzoate-coenzyme A-ligase from *Rhodopseudomonas palustris*: purification, gene sequence, and role in anaerobic degradation. **J. Bacteriol**, 1994; 176: 634–641.  
[DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.176.3.634-641.1994>], [Google Scholar]
17. Gibson J., Dispensa M., Harwood C. S. 4-Hydroxybenzoyl coenzyme A reductase (dehydroxylating) is required for anaerobic degradation of 4-hydroxybenzoate by *Rhodopseudomonas palustris* and shares features with molybdenum-containing hydroxylases. **J. Bacteriol**, 1997; 179: 634–642.  
[DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.179.3.634-642.1997>], [Google Scholar]
18. Gibson J., Harwood C. Metabolic diversity in aromatic compound utilization by anaerobic microbes. **Annu. Rev. Microbiol**, 2002; 56: 345–369.  
[DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160749>], [Google Scholar]
19. Gorny N., Schink B. Complete anaerobic oxidation of hydroquinone by *Desulfococcus* sp. strain Hy5: indications of hydroquinone carboxylation to gentisate. **Arch. Microbiol**, 1994; 162: 131–135.  
[DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00264386>], [Google Scholar]
20. Gorny N., Schink B. Hydroquinone degradation via reductive dehydroxylation of gentisyl-CoA by a strictly anaerobic fermenting bacterium. **Arch. Microbiol**, 1994; 161: 25–32.  
[DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00248890>], [Google Scholar]
21. Gorny N., Schink B. Anaerobic degradation of catechol by *Desulfobacterium* sp. strain Cat2 proceeds via carboxylation to protocatechuate. **Appl. Environ. Microbiol**, 1994; 60: 3396–3340.  
[Google Scholar]
22. Harwood C.S., Burchhardt G., Herrmann H., Fuchs G. Anaerobic metabolism of aromatic compounds via the benzoyl-CoA pathway. **FEMS Microbiology Reviews**, 1999; 22(5): 439–458.  
[DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1998.tb00380.x>], [Google Scholar]
23. He Z., Wiegel J. Purification and characterisation of an oxygen-sensitive, reversible 3,4-dihydroxybenzoate decarboxylase from *Clostridium hydroxybenzoicum*. **J. Bacteriol**, 1996; 178: 3539–3543.  
[DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.178.12.3539-3543.1996>], [Google Scholar]
24. Heider J., Spormann A.M., Beller H.R. et al. Anaerobic bacterial metabolism of hydrocarbons. **FEMS Microbiology**, 1998; 22(5): 459–473.  
[DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1998.tb00381.x>], [Google Scholar]
25. Hirsch W., Schägger H., Fuchs G. Phenylglyoxylate: NAD<sup>+</sup> oxidoreductase (CoA benzoylating), a new enzyme of anaerobic phenylalanine metabolism in the denitrifying bacterium *Azoarcus evansii*. **Eur. J. Biochem**, 1998; 251: 907–915.  
[DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2510907.x>], [Google Scholar]
26. Hopper D. J. Incorporation of [<sup>18</sup>O]water in the formation of *p*-hydroxybenzyl alcohol by the *p*-cresol methylhydroxylase from *Pseudomonas putida*. **Biochem. J**, 1978; 175: 345–347.  
[DOI: <https://doi.org/10.1042/bj1750345>], [Google Scholar]
27. Kahng H.Y., Kukor J.J., Oh K.H. Characterization of strain HY99, a novel microorganism capable of aerobic and anaerobic degradation of aniline. **FEMS Microbiol. Lett**, 2000; 190: 215–221.  
[DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09289.x>], [Google Scholar]

28. Krieger C.J., Beller H.R., Reinhard M., Spormann A.M. Initial reactions in anaerobic oxidation of *m*-xylene by the denitrifying bacterium *Azoarcus* sp. strain T. **J. Bacteriol**, 1999; 181: 6403–10.  
[Google Scholar]
29. Lack A., Fuchs G. Evidence that phenol phosphorylation to phenylphosphate is the first step in anaerobic phenol metabolism in a denitrifying *Pseudomonas* sp. **Arch. Microbiol**, 1994; 161: 306–311.  
[DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00276473>], [Google Scholar]
30. Lovley D.R. Bioremediation. Anaerobes to the rescue. **Science**, 2001; 293: 1444–1446.  
[DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1063294>], [Google Scholar]
31. Lovley D.R. Anaerobic benzene degradation. **Biodegradation**, 2000; 11: 107–16.  
[DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1011191220463>], [Google Scholar]
32. Matafonova G.G., Batoev V.B., Sosnin E.A., Christofi N. Combined Method for Degradation of Chlorophenols. **Chemistry for Sustainable Development**, 2008; 2: 189–195.  
[Google Scholar]
33. Meckenstock R.U., Annweiler E., Michaelis W., Richnow H.H., Schink B. Anaerobic naphthalene degradation by a sulfate-reducing enrichment culture. **Appl. Environ. Microbiol**, 2000; 66: 2743–47.  
[DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.66.7.2743-2747.2000>], [Google Scholar]
34. Mohamed M.E., Seyfried B., Tschach A., Fuchs G. Anaerobic oxidation of phenylacetate and 4-hydroxyphenylacetate to benzoyl-CoA and CO<sub>2</sub> in denitrifying *Pseudomonas* sp. Evidence for an a-oxidation mechanism. **Arch. Microbiol**, 1993; 159: 563–573.  
[DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00249036>], [Google Scholar]
35. Morasch B., Schink B., Tebbe C., Meckenstock R. U. Degradation of *o*-xylene and *m*-xylene by a novel sulfate-reducer belonging to the genus *Desulfotomaculum*. **Arch. Microbiol**, 2004; 181 (6): 407–417.  
[DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-004-0672-6>], [Google Scholar]
36. Müller J.A., Galushko A.S., Kappler A., Schink B. Anaerobic degradation of *m*-cresol by *Desulfobacterium cetonicum* is initiated by formation of 3-hydroxybenzylsuccinate. **Arch. Microbiol**, 1999; 172: 287–294.  
[DOI: <https://doi.org/10.1007/s002030050782>], [Google Scholar]
37. Müller J.A., Galushko A.S., Kappler A., Schink B. Initiation of anaerobic degradation of *p*-cresol by formation of 4-hydroxybenzylsuccinate in *Desulfobacterium cetonicum*. **J. Bacteriol**, 2001; 183: 752–57.  
[DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.183.2.752-757.2001>], [Google Scholar]
38. Pirog T., Antonuk S., Sofilkanich A. Transformation of aromatic compounds in a surfactant by *Rhodococcus erythropolis* IMV AL-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405. **Scientific Works of NUFT**, 2016; 22(1): 7–13. (In Ukrainian)
39. Pirog T.P., Iutynska G.O., Sofilkanich A.P., Konon A.D. **Microbial surfactants in environmental technologies**. Kyiv: Scientific Thought, 2016. 279 p. (In Ukrainian)
40. Rabus R., Wilkes H., Schramm A., Harms G., Behrends A. et al. Anaerobic utilization of alkylbenzenes and *n*-alkanes from crude oil in an enrichment culture of denitrifying bacteria affiliating with the beta-subclass of Proteobacteria. **Environ. Microbiol**, 1999; 1: 145–5.  
[DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.1999.00014.x>], [Google Scholar]
41. Reichenbecher W., Rüdiger A., Kroneck P.M.H., Schink B. One molecule of molybdopterine guanine dinucleotide is associated with each subunit of the heterodimeric Mo-Fe-S protein transhydroxylase of *Pelobacter acidigallici* as determined by SDS/PAGE and mass spectrometry. **Eur. J. Biochem**, 1996; 237: 406–413.  
[DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0406k.x>], [Google Scholar]
42. Reichenbecher W., Schink B. Towards the reaction mechanism of pyrogallol-phloroglucinol transhydroxylase of *Pelobacter acidigallici*. **Biochim. Biophys. Acta**, 1999; 1430: 245–253.  
[DOI: [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(99\)00004-7](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(99)00004-7)], [Google Scholar]

43. Reichenbecher W., Philipp B., Suter M. J-F., Schink B. Hydroxyhydroquinone reductase, the initial enzyme involved in the degradation of hydroxyhydroquinone (1,2,4-trihydroxybenzene) by *Desulfovibrio inopinatus*. **Arch. Microbiol**, 2000; 173(3): 206–212. [DOI: <https://doi.org/10.1007/s002039900130>], [Google Scholar]
44. Salmanov M., Veliyev M., Babashly A., Bektashi N. Biodegradation of halogen structured aromatic associations with bacteria isolated from Azerbaijan coasts of Caspian. **Bulletin of the Moscow State Regional University. Series: Natural Sciences**, 2010; 2: 45–50. (In Russian).
45. Seyfried B., Tschsch A., Fuchs G. Anaerobic degradation of phenylacetate and 4-hydroxyphenylacetate by denitrifying bacteria. **Arch. Microbiol**, 1991; 155: 249–255. [DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00252208>], [Google Scholar]
46. Schink B., Philipp B., Müller J. Anaerobic Degradation of Phenolic Compounds. **Naturwissenschaften**, 2000; 87(1): 12–23. [DOI: <https://doi.org/10.1007/s001140050002>], [Google Scholar]
47. Schneider S., Fuchs G. Phenylacetyl-CoA: acceptor oxidoreductase, a new alpha-oxidizing enzyme that produces phenylglyoxylate. Assay, membrane localization, and differential production in *Thauera aromatica*. **Arch. Microbiol**, 1998; 169: 509–516. [DOI: <https://doi.org/10.1007/s002030050604>], [Google Scholar]
48. Schnell S., Bak F., Pfennig N. Anaerobic degradation of aniline and dihydroxybenzenes by newly isolated sulfate-reducing bacteria and description of *Desulfobacterium anilini*. **Arch. Microbiol**, 1989; 152: 556–63. [DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00425486>], [Google Scholar]
49. Shcherbina O., Sysa L., Bedzay A. Using gas chromatography methods for the identification of substances of different classes, which determinate fire risk. **Bulletin of Lviv State University of Life Safety**, 2016; 14: 209–214. (In Ukrainian) [Google Scholar]
50. Spormann A.M., Widdel F. Metabolism of alkylbenzenes, alkanes, and other hydrocarbons in anaerobic bacteria. **Biodegradation**, 2000; 11: 85–105. [DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1011122631799>], [Google Scholar]
51. Sullivan E.R., Zhang X., Phelps C., Young L.Y. Anaerobic mineralization of stable-isotope-labeled 2-methylnaphthalene. **Appl. Environ. Microbiol**, 2001; 67: 4353–57. [DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.4353-4357.2001>], [Google Scholar]
52. Sushko A.R., Dugan A.M., Zhurahivska L.R., Marintsova N.G. Microorganisms as a destructors and indicators of toxicity of heterocyclic compounds. **Bulletin of Lviv Polytechnic National University**, 2016; 841: 249–257 (In Ukrainian) [Google Scholar]
53. Timergazina I.F., Perekhodova L.S. To the problem of biological oxidation of oil and petroleum products using hydrocarbon-oxidizing microorganisms. **Petroleum Geology – Theoretical and Applied Studies**, 2012; 7(1): 1–28. (In Russian)
54. Tyagi M., da Fonseca M.M., de Carvalho C. C. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. **Biodegradation**, 2011; 22(2): 231–241. [DOI: <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4>]
55. Verkholiak N.S., Peretyatko T.B. Utilization of aromatic compounds by bacteria. I. Aerobic and anaerobic destruction. **Studia Biologica**, 2018; 12(2): 135–156. [DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1202.566>], [Google Scholar]
56. Vlasova E.P., Puntus I.F., Petrikov K.V., Filonov A.E., Ponamoreva O.N. Features of the functioning of the enzyme systems for naphthalene biodegradation of the plasmid-containing strain *Pseudomonas* sp.142nf (pnf142) under various culture conditions. **Minsk: Publishing Center of BSU**, 2008; 229–231. (In Russian)
57. Winter J., Popoff M. R., Grimont P., Bokkenheuser V.D. *Clostridium orbiscindens* sp. nov., a human intestinal bacterium capable of cleaving the flavonoid C-ring. **Int. J. Syst. Bacteriol**, 1991; 41: 355–357. [DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-41-3-355>], [Google Scholar]

58. Zhang X., Sullivan E.R., Young L.Y. Evidence for aromatic ring reduction in the biodegradation pathway of carboxylated naphthalene by a sulfate reducing consortium. **Biodegradation**, 2000; 11: 117–24.  
[DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1011128109670>], [Google Scholar]
59. Zeyaulah Md., Ahmad R., Naseem A. et al. Catechol biodegradation by *Pseudomonas* strain: a critical analysis. **Int. J. Chem. Sci**, 2009; 7(3): 2211–2221.
60. ZoBell C.E. Action of microorganisms on hydrocarbons. **Bacteriol. Rev.**, 1946; 10: 1–49.
61. ZoBell C.E. Assimilation of hydrocarbons by microorganisms. **Adv. Enzymol. Relat. Subj. Biochem**, 1950; 10: 443–486.

---

## UTILIZATION OF AROMATIC COMPOUNDS BY BACTERIA. II. FLEXIBILITY OF AROMATIC XENOBIOTICS

**N. S. Verkholiak, T. B. Peretyatko**

*Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: nataljaverkholjak@gmail.com*

In this review, the peripheral pathways for the decomposition of aromatic compounds by bacteria are considered. Aromatic compounds can be degraded with participation of bacteria under aerobic and anaerobic conditions. In the presence of oxygen, aromatic compounds can be metabolized by bacteria of genera *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* and others. Under anaerobic conditions, decomposition of compounds with a benzene core is carried out by sulfate-reducing, nitrate-reducing and fermenting bacteria.

Degradation of the aromatic compounds is a complex long-term process, which in natural conditions depends on biotic and abiotic factors. Peripheral pathways for the expansion of aroma compounds differ according to their structure, however, they mainly lead to the formation of central intermediates: catechol – under aerobic conditions and benzoyl-CoA – under anaerobic.

The aromatic compounds that are converted via benzoyl-CoA pathway should contain a carboxyl group (that is, an aromatic acid) or carboxylate to form an aromatic acid in one of the first steps of the metabolism. In this way, a destruction of phenol, *o*-cresol, catechol and hydroquinone occurs. All intermediate compounds of the reducing benzoyate pathway are CoA-thioesters. Aromatic compounds with two or more hydroxyl groups are less stable and more easily degraded by microorganisms. A decomposition of these compounds is not always associated with carboxylation as an initial stage, and subsequent hydroxylation or rearrangement processes provide a reduction in the stability of the benzene ring.

The review considers a novel pathway for degradation of the aromatic compounds, described by B. Schink et al., in which hydroxyhydroquinone is a central intermediate. Using this pathway, nitrate-reducing bacteria decompose resorcinol,  $\alpha$ -resorcyate, 3-hydroxybenzoate, gentisic acid and possibly hydroquinone in hydroxylation and decarboxylation reactions.

Due to high mobility and ability to form contaminants in aquifers, hydrocarbon oils are among the most common pollutants in the groundwater. The initial stages of transformation of the aromatic compounds – of the benzene, toluene, ethylbenzene and xylene (BTEX) by various microorganisms lead to a formation of benzoyl-CoA, which

further decomposes along the benzoyl-CoA pathway. Toluene is most easily exposed to biodestruction in anaerobic conditions among the components of BTEX.

The activities of agricultural enterprises and various industries contribute to a continuous flow of xenobiotics, in particular of the aromatic nature into the environment. An important issue that should be addressed is a search for a variety of methods for cleaning the contaminated environment. An effective and environmentally safe way is bioremediation, as a technology for the use of living organisms to decompose pollutants into less toxic compounds or transform them into carbon dioxide and water. Therefore, more studies are being conducted on the ability of different types of microorganisms to detoxify the environment from pollutants.

**Keywords:** phenol, aromatic hydrocarbons, hydroquinone, phloroglucinol, pyrogallol, degradation

Одержано: 09.11.2018