



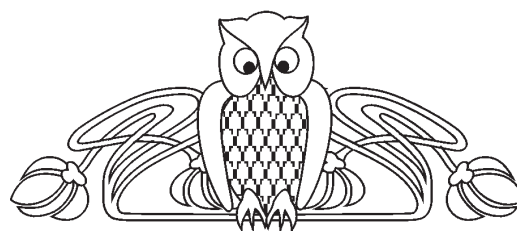
25. Bouza L, Jacques M., Miginiac E. Requirements for *in vitro* rooting of *Paeonia suffruticosa* Andr. cv. 'Mme de Vetry' // *Scientia Horticulturae*. Elsevier. 1994. Vol. 58. P. 223–233.
26. Kong X. S., Zhang M. X. Fast propagation of tree peony // *Northwest Hort*. 1998. Vol. 3(4). P. 87–89.
27. Wangl H., Staden van J. Establishment of *in vitro* cultures of tree peonies // *South African J. of Botany*. 2001. Vol. 67. P. 358–361.
28. Wang H. Y., He S. L., Tanaka M., Pham T. V., Teixeira da Silva J. A. Effects of 2,4-D on callus formation in tree peony (*Paeonia suffruticosa*) under different light conditions and light quality // *Floriculture Ornamental Biotech*. 2010. Vol. 4 (Special Iss. 1). P. 99–102.
29. Buchheim J. A. T., Meyer Jr. M. M. Micropropagation of peony (*Paeonia* spp.) // *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer, 1992. Vol. 20, № 4. P. 269–285.
30. Yu X. N., Wu H. J., Cheng F. Y., Teixeira da Silva J. A., Shen M. M. Studies on multiple shoot induction and proliferation of *Paeonia lactiflora* Pall. 'Zhong Sheng Fen' // *Propagation of Ornamental Plants*. 2011. Vol. 11(3). P. 144–148.
31. Yu X. N., Wu H. J., Teixeira da Silva J. A., Shen M. M. Multiple shoot induction and rooting of *Paeonia lactiflora* 'Da Fu Gui' // *African J. of Biotechnology*. 2012. Vol. 11(41). P. 9776–9781.
32. Горбунов Ю. Н., Дзыбов Д. С., Кузьмин З. Е., Смирнов И. А. Методические рекомендации по реинтродукции редких и исчезающих видов растений (для ботанических садов). Тула : Гриф и К, 2008. 56 с.
33. Николаева М. Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л. : Наука, 1985. 347 с.
34. Николаева М. Г., Лянгузова И. В., Поздова Л. М. Биология семян. СПб. : Бот. ин-т им. В. Л. Комарова РАН, 1999. 232 с.
35. Ветчинкина Е. М. Биологические особенности культивирования *in vitro* семян и зародышей редких видов растений : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 22 с.
36. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, № 13. P. 473–497.
37. Ikuta A., Kamiya K., Satake T., Saiki Y. Triterpenoids from callus tissue cultures of *Paeonia* species // *Phytochemistry*. Elsevier, 1995. Vol. 38. P. 1203–1207.
38. Wang J. F., Li Q., Meng H. Induction and regeneration of callus tissues in five peony cultivars // *J. of Beijing Forestry University*. 2010. Vol. 32. P. 213–216.
39. Lloud G., Mc Cown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // *Proc. Intern. Plant Propagators' Society*. 1980. Vol. 30. P. 420–427.
40. Meyer M. M. Culture of *Paeonia* callus by tissue culture techniques. // *Amer. Peony Society Bul.* 1976. Vol. 218. P. 27–29.

УДК 579.835: 577.114.083: 577.114.4: 577.114.7: 577.118

БИОСОРБЦИЯ Cu(II) ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОМ *ENTEROBACTER CLOACAE* K7

А. А. Нешко, В. С. Гринёв, Е. В. Крючкова,
Ю. П. Федоненко, Е. В. Любунь, О. В. Турковская

Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН, Саратов
E-mail: aansanura@rambler.ru



Выделен и охарактеризован экстраклеточный полисахарид (ЭПС), продуцируемый грамотрицательными непатогенными ризосферными бактериями *Enterobacter cloacae* K7. Исследован процесс биосорбции катионов Cu(II) из водного раствора полученным экзополисахаридом. Максимальная сорбционная способность биосорбента составила 0.17 мМ мг⁻¹ ЭПС или 12 г меди на 1 г ЭПС при pH 5, T = 25 °C и времени инкубации 30 мин. Экспериментальные значения адсорбции катионов Cu(II) (Q_{эксп}) биосорбентом были сопоставимы с максимально возможным значением адсорбции (Q_{макс} = 0.18 мМ), рассчитанным с использованием уравнения Лэнгмюра. Степень аффинности между исследуемым полисахаридом и катионами Cu(II) была высокой и составила 2.04 мМ л⁻¹. Полученные данные имеют практическую ценность при создании технологии ремедиации водных объектов от тяжёлых металлов.

Ключевые слова: экзополисахариды, медь, биосорбция, *Enterobacter cloacae*, биоремедиация.

Biosorption of Cu (II) by an Exopolysaccharide Isolated from *Enterobacter Cloacae* K7

А. А. Neshko, V. S. Grinev, Ye. V. Kryuchkova,
Yu. P. Fedonenko, Ye. V. Lyubun, O. V. Turkovskaya

An extracellular polysaccharide (EPS) produced by the gram-negative nonpathogenic rhizosphere bacteria *Enterobacter cloacae* K7 was isolated and characterized. The process of biosorption of Cu(II) cations from aqueous solution by the isolated exopolysaccharides was investigated. The maximum sorption capacity was 0.17 mM/mg of EPS or 12 g of Cu(II) per g of EPS at pH 5, T = 25 °C, and incubation for 30 min. The experimental values of the



adsorption of Cu(II) cations (Q_{exp}) by the biosorbent were comparable to the maximum possible value of adsorption ($Q_{max} = 0.18 \text{ mM}$) calculated by using the Langmuir equation. The degree of affinity between EPS being examined and Cu(II) cations was high (2.04 mmol l^{-1}). The obtained data are of practical importance for the development of a technology for the remediation of water bodies from heavy metals.

Key words: exopolysaccharides, copper, biosorption, *Enterobacter cloacae*, bioremediation.

Многие современные промышленные процессы сопровождаются выбросом в водные экосистемы сточных вод, содержащих токсичные тяжёлые металлы. В связи с этим уделяется пристальное внимание разработке эффективных технологий очистки загрязнённых объектов. Бактериальные клетки способны извлекать из окружающей среды значительные количества ионов металлов посредством активных метаболических процессов (биоаккумуляции) [1] или пассивной адсорбции металлов заряженными макромолекулами, экскретируемыми клеткой [2, 3]. Растущий интерес к микробным экзополимерам обусловлен эффективностью их использования в процессах биоремедиации загрязнённых водных объектов в качестве сорбентов тяжёлых металлов (ТМ) [4]. Процесс биосорбции привлекает внимание исследователей, являясь низкокзатратным, экологически безопасным и высокоэффективным по сравнению с существующими физико-химическими методами очистки [5].

Экстраклеточные полимеры, продуцируемые бактериями в окружающую среду, представляют собой смесь органических макромолекул, состоящую из полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот [6]. Следует отметить, что ключевую роль в хелатировании токсичных ТМ отводят экзополисахаридам (ЭПС) бактерий, часто несущим остатки отрицательно заряженных органических кислот (в том числе уроновых). Наличие анионных групп в составе бактериальных ЭПС обеспечивает неспецифическое связывание положительно заряженных катионов металлов [7–9]. Для ЭПС, изолированных с поверхности бактерий родов *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Zooglea*, *Arthrobacter*, *Methylobacterium* и *Enterobacter*, была выявлена высокая способность к связыванию различных катионов металлов [10].

Сорбционная ёмкость ЭПС и средство к ионам ТМ определяется как их химическим строением, так и способом организации макромолекулы в растворе (доступностью тех или иных сайтов связывания) при определённых условиях. Эффективность процессов взаимодействия ЭПС с металлами зависит также от природы катиона

металла, температуры, pH окружающей среды, соотношения концентраций биосорбента и поллютанта [4, 10].

Настоящая работа посвящена исследованию процесса биосорбции катионов Cu(II) из водного раствора экзополисахаридом, продуцируемым ризосферным штаммом *E. cloacae* K7. В литературе есть данные по изучению металл-аккумулирующих свойств бактерий рода *Enterobacter* [11], по определению сорбционного потенциала их ЭПС к ионам таких металлов, как Cr(VI), Pb(II), Cu(II) и Cd(II) [12–15].

В качестве модельного объекта нами была выбрана медь как один из наиболее широко распространённых поллютантов акваценозов, расположенных рядом с промышленными объектами горнодобывающей, металлообрабатывающей, машиностроительной, автомобильной и химической промышленности [16].

Материалы и методы

В работе использовали природный ризосферный штамм *E. cloacae* K7 [17], выделенный авторами и включенный в коллекцию ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>).

Для получения препаративных количеств бактериальных ЭПС штамм выращивали до окончания логарифмической фазы роста на жидкой и плотной питательных средах LB [18]. Бактерии осаждали центрифугированием при $3000 \times g$ в течение 40 мин, после чего клетки ресуспендировали в 0.15 М NaCl. Процедура удаления капсульного материала с поверхности клеток подробно изложена в работе [19]. Смытый в течение первых двух дней капсульный материал концентрировали, диализовали (предел исключения мембраны 12–14 кДа) против дистиллированной воды (48 ч), снова концентрировали и лиофилизировали. С поверхности агаризованной среды клетки смывали минимальным объёмом 0.15 М NaCl, суспендировали в течение 12 ч, осаждали центрифугированием, а надосадочную жидкость после диализа лиофилизировали. Выход ЭПС рассчитывали на вес сухой биомассы бактерий. Колориметрическое определение содержания в ЭПС углеводов и белка проводили известными методами, описанными нами ранее [20]. Измерения выполняли на Specord 40 («Analytik Jena AG», Германия).

Денатурирующий электрофорез препаратов ЛПС выполняли в 15% ПААГ [21]. Визуализацию компонентов осуществляли окрашиванием гелей красителем на основе нитрата серебра [22].

Анализ моносахаридного состава ЭПС проводили с помощью ГЖХ в виде ацетатов полиолов



на хроматографе GC-2010 («Shimadzu», Япония). Идентификацию уруновых кислот проводили с помощью ТСХ, сравнивая R_f со стандартами глюкоуруновой и галактуруновой кислот, нанесенными на пластину в качестве свидетелей. Элюент – пиридин, этилацетат, вода, ледяная укусовая кислота в соотношении 5 : 5 : 3 : 1. Для визуализации результатов хроматографии опрыскивали пластины раствором анизидинфталата в *n*-бутаноле и нагревали.

Анализ состава жирных кислот липидного компонента осуществляли методом ГЖХ метиловых эфиров жирных кислот [23].

Для экспериментов по биосорбции использовали раствор ЭПС (1 мг/мл) и сток-раствор соли $CuCl_2 \times 2H_2O$ в концентрации 100 мМ. Исследование проводили в стеклянных мерных пробирках с притёртыми пробками при 25 °С. Для оценки влияния начальных концентраций ионов металла на биосорбцию использовали 0.1; 1.0 и 10.0 мМ рабочие растворы, что в пересчёте на металл составило 6.4; 64.0 и 640.0 мг/л соответственно. К раствору ЭПС добавляли раствор хлорида меди определённой концентрации, тщательно перемешивали, время экспозиции образцов составляло 30 мин. Для оценки сорбции меди на стенках стеклянной посуды использовали экспериментальные контроли рабочих растворов без добавления биосорбента. Водородный показатель рабочих растворов $Cu(II)$ и ЭПС контролировали с помощью рН-метра «Аквилон» рН 410 (Россия). При завершении процесса биосорбции ЭПС осаждали 6-кратным объёмом этилового спирта на холоду с последующим центрифугированием на Sigma 2-16P (Германия) при $4500 \times g$, 20 мин.

Экспериментальную величину адсорбции металла, сорбированного ЭПС ($Q_{\text{эксп}}$), его начальную концентрацию до процесса биосорбции (C_0) и равновесную концентрацию металла в надосадочной жидкости (C_p) определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрометра (ААС) Thermo Scientific iCE 3500 («Thermo Scientific», США). Все реактивы, использованные в работе, имели квалификацию «осч». Для градуировки спектрометра использовались ГСО раствора меди. Измерение каждого образца проводили в трехкратной повторности. Полученную $Q_{\text{эксп}}$ сравнивали с предельно возможной адсорбцией ($Q_{\text{макс}}$), рассчитанной с использованием уравнения Лэнгмюра [20].

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel 2003.

Результаты и их обсуждение

Выделение и характеристика ЭПС. Известно, что на поверхности клеточной стенки грамотрицательных энтеробактерий локализованы экстраклеточные полимеры, среди которых обычно преобладает фракция полисахаридов. Исходя из предположения, что именно они играют ключевую роль в связывании металла, первый этап работы был посвящен выделению и характеристике ЭПС штамма *E. cloacae* K7.

Поскольку условия культивирования существенно сказываются как на количестве продуцируемого бактериями ЭПС, так и на его физико-химических свойствах, бактерии *E. cloacae* K7 выращивали на среде LB различной плотности. При культивировании бактерий на плотной среде выход ЭПС был в три раза выше, чем у культуры, выращенной в жидкой среде. Полученные препараты ЭПС характеризовались различным соотношением углеводной, белковой и липидной составляющих. Так, в ЭПС, выделённом с поверхности бактерий, выращенных в жидкой среде, содержание углеводов и белка составляло ~20 и ~8% соответственно. При этом в ЭПС, продуцируемом энтеробактериями на плотной среде, было выявлено меньшее присутствие белков (~5%) и более высокая доля углеводов (~52%).

Электрофорез полученных ЭПС в денатурирующих условиях показал, что каждый из препаратов представляет собой смесь молекул, различающихся по длине полисахаридной цепи (рис. 1).

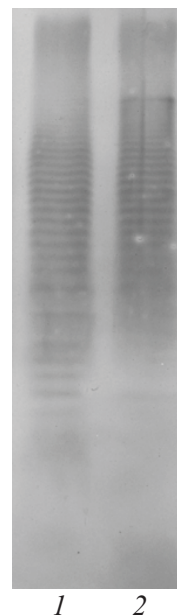


Рис. 1. Электрофореграмма экзополисахаридов, выделенных с поверхности бактерий *E. cloacae* K7, культивируемых на жидкой (1) и агаризованной (2) средах LB



При этом ЭПС, выделенный с поверхности бактерий, культивируемых на агаризованной среде, характеризовался более высокой степенью полимеризации отдельных молекул. На этом основании в дальнейшей работе был использован препарат ЭПС, выделенный с поверхности *E. cloacae* K7, культивируемых на агаризованной среде LB.

В составе липидного компонента выделенного полимера методом ГЖХ были идентифицированы следующие жирные кислоты (%): C11:0 (27.56), C12:0 (6.99), C14:0 (7.99), 3-ОН-C14:0 (34.20), C16:0 (18.71), *транс*-C18:1-9 (4.56). Установлено, что при культивировании в жидкой среде бактерии продуцировали ЭПС со сходным профилем жирных кислот, но в 8 раз более низким содержанием ундекановой кислоты.

С использованием ГЖХ анализа ацетатов полиолов в ЭПС были идентифицированы нейтральные моносахариды (%): галактоза (75.54), глюкоза (6.54), манноза (7.74), рамноза (6.76), арабиноза (2.68) и ксилоза (0.73). Следует отметить, что на хроматограмме присутствовали пики неидентифицированных компонентов, предположительно являющихся О-метилованными и диаминопроизводными моносахаридных остатков.

Дополнительно моносахаридный состав анализировали методом ТСХ гидролизата ЭПС. Помимо выявленных в ЭПС нейтральных сахаров было показано наличие глюкуроновой кислоты. Полученные данные согласуются с изученным ранее моносахаридным составом ЭПС штамма *E. cloacae* P2B, где галактоза и глюкоза также превалировали (составляя суммарно ~81%), а остальные моносахаридные остатки присутствовали в значительно меньших количествах (суммарно ~19%) [24]. Близкое соотношение моносахаридных остатков было показано другими исследователями для ЭПС штамма *Enterobacter* (NCIB 11870) и двух изолятов *E. cloacae* (фукоза / галактоза / глюкоза / глюкуроновая кислота) 1 : - : 2 : 1; 2 : 3 : 2 : 1 и 2 : 1 : 1 : 1 [25–27] соответственно.

Таким образом, в выделенном препарате ЭПС удалось продемонстрировать наличие функциональных групп, являющихся основными сайтами связывания металлов. Так, например, гидроксильные группы нейтральных моносахаридов способны взаимодействовать с катионами ТМ в щелочных условиях. В то же время важная роль в связывании ТМ принадлежит карбоксильным группам уроновых кислот. Анализ химического строения ЭПС штамма K7 позволил выдвинуть гипотезу о его высоком биосорбционном потенциале.

Биосорбция Cu(II) бактериальным ЭПС.

Биосорбционная система состоит из твердой фазы (*сорбента*), жидкой фазы, содержащей вещество, которое необходимо сорбировать (*сорбтив*), а также вещества, сорбированного поверхностью биосорбента (*сорбат*). На эффективность процесса биосорбции влияют следующие факторы: pH раствора, температура, ионная сила, концентрация и размер частиц биосорбента, начальная концентрация сорбтива, скорость перемешивания, время инкубации [10, 28, 29]. В нашем случае в качестве сорбента выступал ЭПС штамма K7 в концентрации 1 мг/мл, а в качестве сорбтива катионы Cu(II) в концентрациях 0.1; 1.0 и 10.0 мМ. Различное количество меди в жидкой фазе использовалось для выявления максимального потенциала насыщения исследуемого биосорбента. Необходимо было определить, при какой концентрации меди количество катионов в растворе меньше, чем сайтов связывания, а также концентрацию металла, при которой все функциональные группы ЭПС вступили во взаимодействие с медью.

Данные, полученные для исследуемых в настоящей работе биосорбционных систем, приведены в таблице. С помощью ААС анализа биосорбента и жидкой фазы показано, что количество металлических ионов, сорбированных на единицу ЭПС ($Q_{\text{эксп}}$), повышалось с увеличением начальной концентрации металла от 0.1 до 1.0 мМ в 10 раз и составило 0.01 и 0.14 мМ соответственно. Дальнейшее увеличение концентрации меди не привело к значительному повышению биосорбции. Из раствора, содержащего 10.0 мМ металла, осаждалось на ЭПС лишь 0.17 мМ. Вероятно, в данном случае наблюдается насыщение сайтов связывания ЭПС, так как увеличение концентрации соли меди не приводит к линейному росту количества сорбированного металла.

Количественные показатели биосорбции ионов Cu(II) экзополисахаридом *E. cloacae* K7

Показатели, мМ				pH*
C_o	C_p	$Q_{\text{эксп}}$	$Q_{\text{Лэнг}}$	
10.0	9.63	0.17 ± 0.03	0.17	4.08 / 4.95
1.0	0.79	0.14 ± 0.02	0.11	4.53 / 5.90
0.1	0.06	0.014 ± 0.003	0.019	5.02 / 5.90

Примечание. C_o – исходная концентрация меди в растворе, C_p – равновесная концентрация меди в растворе, $Q_{\text{эксп}}$ – величина биосорбции металла, определённая экспериментально, $Q_{\text{Лэнг}}$ – величина биосорбции металла, рассчитанная с использованием уравнения Лэнгмюра, «*» – значение pH исходного раствора хлорида меди(II) / значение pH раствора хлорида меди(II) с ЭПС.



Известно, что процесс биосорбции протекает до момента, пока не устанавливается равновесие между количеством сорбированных катионов металла ($Q_{\text{эксп}}$) и их частью, оставшейся в растворе (так называемой финальной или равновесной концентрацией C_p). В настоящем исследовании адсорбция катионов Cu(II) проходила наиболее интенсивно в начальный момент времени и достигала своего равновесного состояния в течение 30 мин.

Поскольку pH среды влияет на растворимость ионов металла и степень ионизации функциональных групп полимеров, была проведена регистрация значения pH в исследуемых системах. Значения начальных pH растворов биосорбента и Cu(II), а также изменения pH в ходе процесса биосорбции представлены в таблице. При анализе сорбционных характеристик ЭПС следует учитывать, что водородный показатель растворов солей меди вследствие гидролиза смещается в сторону меньших значений pH. При наличии избытка катионов гидроксония в растворе протолитическое равновесие смещается в сторону молекулярной формы ЭПС, при этом уменьшается количество диссоциированных карбоксильных групп остатков глюкуроновой кислоты – основных сайтов связывания катионов металлов. Исследуемые нами процессы биосорбции протекали в диапазоне pH от 4.95 до 5.90. Литературные данные также свидетельствуют, что сорбция катионов Cu(II) в данном диапазоне происходит наиболее интенсивно [30].

Расчёт изотермы адсорбции с использованием уравнения Лэнгмюра. Чтобы наиболее полно представлять механизм процесса

биосорбции, а также анализировать экспериментально полученные данные, применяют эмпирическое моделирование. Традиционно для этих целей используют классическую теорию мономолекулярной адсорбции Лэнгмюра, одно из основных положений которой гласит, что каждый активный центр биосорбента может адсорбировать только одну молекулу адсорбата, в результате чего на поверхности первого образуется *мономолекулярный слой* второго [28, 31]. Уравнение Лэнгмюра имеет следующий вид:

$$Q_{\text{Лэнг}} = Q_{\text{max}} \frac{b \cdot C_p}{(1 + b \cdot C_p)},$$

где $Q_{\text{Лэнг}}$ – величина биосорбции металла, рассчитанная с использованием уравнения Лэнгмюра; постоянные: Q_{max} – отражающая максимально возможную адсорбцию на исследуемом биосорбенте и b – характеризующая аффинность (средство) между сорбатом и сорбентом; C_p – равновесная концентрация. Таким образом, хороший биосорбент будет описываться высоким значением Q_{max} , а также крутым наклоном изотермы (т.е. высоким значением b).

Для нахождения величины предельной адсорбции Q_{max} необходимо построить изотерму адсорбции в координатах линейной формы уравнения Лэнгмюра $C_p/Q_{\text{эксп}} = f(C_p)$. Изотерма адсорбции получается в виде прямой, тангенс угла наклона которой равен $1/Q_{\text{max}}$, а отрезок, отсекаемый прямой от оси ординат, равен $1/(Q_{\text{max}} \times b)$. Изотерма адсорбции, построенная с использованием наших экспериментальных данных, представлена на рис. 2.

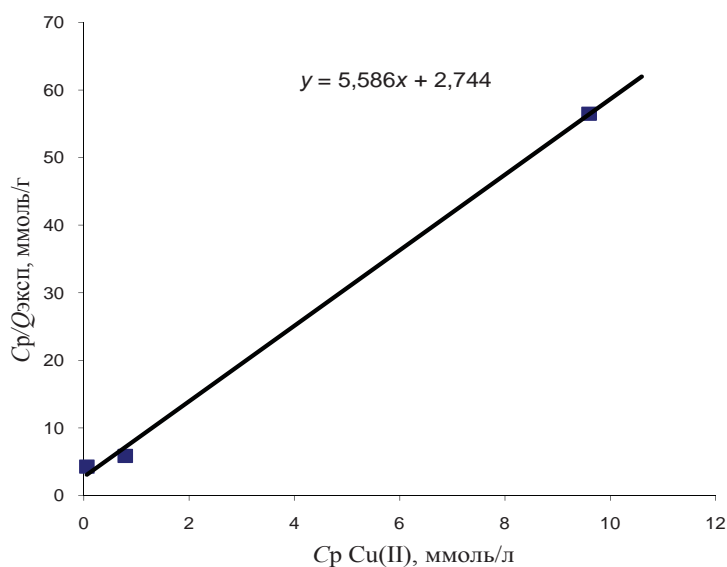


Рис. 2. Изотерма адсорбции меди экзополисахаридом *E. cloacae* K7 в координатах линейной формы уравнения Лэнгмюра $C_p/Q_{\text{эксп}} = f(C_p)$



Как видно из графика, тангенс угла наклона изотермы в нашем случае равен 5.586. Таким образом, Q_{\max} для используемого нами биосорбента будет 0.18 мМ/мг^{-1} ЭПС, т.е. 1 мг ЭПС штамма К7 максимально способен связать 0.18 мМ меди. Поскольку максимальное определенное нами значение $Q_{\text{эксп}}$ равно 0.17 мМ/мг^{-1} ЭПС, можно сделать вывод, что биосорбция в используемых нами условиях (при $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 4.95, времени экспозиции 30 мин, количестве биосорбента 1 мг) протекает с максимальной производительностью биосорбента. Значение константы b составило 2.04 мМ л^{-1} , что свидетельствует о высокой

степени аффинности, между исследуемым полисахаридом и катионами Cu(II). Значения величин адсорбции, рассчитанные по уравнению Лэнгмюра, $Q_{\text{Лэнг}}$ представлены в таблице. Сравнительный анализ между экспериментальной и теоретической изотермами адсорбции приведён на рис. 3. Поскольку экспериментальные значения адсорбции металла сопоставимы с теоретическими, можно сделать вывод о том, что уравнение Лэнгмюра достаточно полно отражает процесс биосорбции катионов меди на ЭПС штамма К7. Сорбция меди происходит на поверхности биосорбента с образованием монослоя.

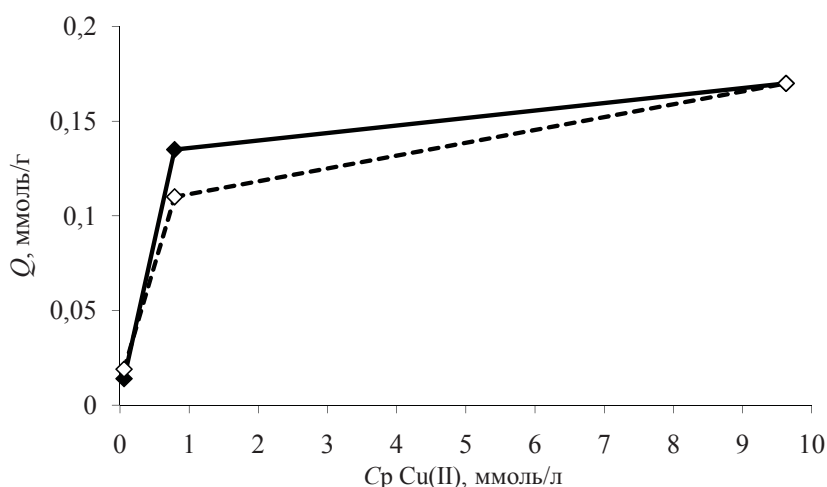


Рис. 3. Сравнение значения адсорбции, рассчитанной по уравнению Лэнгмюра, с экспериментальными значениями: $Q_{\text{эксп}}$ – сплошная линия; $Q_{\text{Лэнг}}$ – прерывистая линия. Ср – равновесная концентрация меди

Таким образом, выделен и охарактеризован ЭПС, продуцируемый бактериями *Enterobacter cloacae* К7, в составе которого выявлено наличие глюкуроновой кислоты, карбоксильные группы которой являются основными сайтами связывания катионов ТМ. Исследуемый ЭПС обладал высокими адсорбционными характеристиками, максимальная биосорбционная способность к катионам меди составила 180 мМ г^{-1} ЭПС, или 12 г г^{-1} ЭПС. Оптимальными условиями для биосорбции были: $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 4.95; $t = 30$ мин; соотношение биосорбента к сорбату 1 мг ЭПС примерно к 1 мМ Cu(II). Полученные в настоящем исследовании данные демонстрируют перспективность использования ЭПС штамма *E. cloacae* К7 в качестве биосорбента к катионам Cu(II).

Список литературы

1. Gadd G. M. Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms // *Experientia*. 1990. Vol. 46, iss. 8. P. 834–840.
2. De Philippis R., Colica G., Micheletti E. Exopolysaccharide-producing cyanobacteria in heavy metal removal from water : molecular basis and practical applicability of the biosorption process // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. Vol. 92. P. 697–708.
3. Sponza D. T. Extracellular polymer substances and physicochemical properties of flocs in steady and unsteady-state activated sludge systems // *Process Biochem.* 2002. Vol. 37. P. 938–998.
4. Pal A., Paul A. K. Microbial extracellular polymeric substances : central elements in heavy metal bioremediation // *Indian J. Microbiol.* 2008. Vol. 48. P. 49–64.
5. Geddi J. L., Sutherland I. W. Uptake of metals by bacterial polysaccharides // *J. Appl. Bacteriol.* 1993. Vol. 74. P. 467–472.
6. Wingender J., Neu T. R., Flemming H. C. Microbial extracellular polymeric substances : characterisation, structure and function // Berlin : Springer, 1999. 123 pp.
7. Bridge T. A. M., White C., Gadd G. M. Extracellular metal-binding activity of the sulphate-reducing bacterium *Desulfococcus multivorans* // *Microbiology*. 1999. Vol. 145. P. 2987–2995.
8. Guibaud G., Tixier N., Bouju A., Baudu M. Relation



- between extracellular polymers composition and its ability to complex Cd, Cu and Pb // *Chemosphere*. 2003. Vol. 50. P. 1701–1710.
9. Liu Y., Lam M. C., Fang H. H. P. Adsorption of heavy metals by EPS of activated sludge // *Water Sci. Technol.* 2001. Vol. 43. P. 59–66.
 10. Vijayaraghavan K., Yeoung-Sang Y. Bacterial biosorbents and biosorption // *Biotechnol. Adv.* 2008. Vol. 26. P. 266–291.
 11. Hernandez A., Mellado R.P., Martinez J. L. Metal accumulation and vanadium-induced multidrug resistance by environmental isolates of *Escherichia hermannii* and *Enterobacter cloacae* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 4317–4320.
 12. Suriya J., Bharathiraja S., Rajasekaran R. Biosorption of Heavy Metals by Biomass of *Enterobacter Cloacae* Isolated from Metal-Polluted Soils // *Inter. J. Chem. Tech. Res.* 2013. Vol. 5, iss. 3. P. 1329–1338.
 13. Iyer A., Mody K., Jha B. Accumulation of hexavalent chromium by an exopolysaccharide producing marine *Enterobacter cloacae* // *Mar. Pollut. Bull.* 2004. Vol. 49. P. 974–977.
 14. Lu W.-B., Shi J.-J., Wang C.-H., Chang J. S. Biosorption of lead, copper and cadmium by indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance // *J. Hazard. Mater.* 2006. Vol. B134. P. 80–86.
 15. Naik M. M., Pandey A., Dubey S. K. Biological characterization of lead-enhanced exopolysaccharide produced by a lead resistant *Enterobacter cloacae* strain P2B // *Biodegradation*. 2012. Vol. 23. P. 775–783.
 16. Материалы к разработке Государственной программы «Водная стратегия России» // Аналитический вестн. Сер.: Экономическая политика. М., 2008. Вып. 6. URL: <http://iam.duma.gov.ru/node/8/4454/14654> (дата обращения: 10.06.2014).
 17. Kryuchkova Y. V., Burygin G. L., Gogoleva N. E., Gogolev Y. V., Chernyshova M. P., Makarov O. E., Fedorov E. E., Turkovskaya O. V. Isolation and characterization of a glyphosate-degrading rhizosphere strain, *Enterobacter cloacae* K7 // *Microbiol. Res.* 2013. Vol. 169, iss.1. P. 99–105.
 18. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Molecular cloning : a laboratory manual, 2nd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
 19. Федоненко Ю. П., Здорovenko Э. Л., Коннова С. А., Игнатов В. В., Шляхтин Г. В. Сравнительная характеристика липополисахаридов и О-специфических полисахаридов *Azospirillum brasilense* Sp245 и его омегон-Км мутантов KM018 и KM252 // *Микробиология*. 2004. Т. 73, № 2. С. 180–187.
 20. Konnova S. A., Makarov O. E., Skvortsov I. M., Ignatov V. V. Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound form by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in *Azospirillum*-wheat root interactions // *FEMS Microbiol. Lett.* 1994. Vol. 118. P. 93–99.
 21. O'Neill M. A., Morris V. J., Selvendran R. R., Sutherland I. W., Taylor I. T. Structure of the extracellular gelling polysaccharide produced by *Enterobacter* (NCIB 11870) species // *Carbohydr. Res.* 1986. Vol. 148, iss. 1. P. 63–69.
 22. Isobe Y. I., Matsumoto Y., Yokoigawa K., Kawai H. Properties of an Extracellular Polysaccharide Produced by a Strain of *Enterobacter* Isolated from Pond Water // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001. Vol. 65, iss. 6. P. 1399–1401.
 23. Mayer H., Tharanathan R. N., Weckesser J. Analysis of lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria // *Methods Microbiol.* 1985. Vol. 18. P. 157–207.
 24. Naik M. M., Pandey A., Dubey S. K. Biological characterization of lead-enhanced exopolysaccharide produced by a lead resistant *Enterobacter cloacae* strain P2B // *Biodegradation*. 2012. Vol. 23, iss. 5. P. 775–783.
 25. O'Neill M. A., Morris V. J., Selvendran R. R., et al. Structure of the extracellular gelling polysaccharide produced by *Enterobacter* (NCIB 11870) species // *Carbohydr. Res.* 1986. Vol. 148, iss. 1. P. 63–69.
 26. Isobe Y., Matsumoto Y., Yokoigawa K. et al. Properties of an extracellular polysaccharide produced by a strain of *Enterobacter* isolated from pond water // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001. Vol. 65, iss. 6. P. 1399–1401.
 27. Meade M. J., Tanenbaum S. W., Nakas J. P. Optimization of novel extracellular polysaccharide production by an *Enterobacter* sp. on wood hydrolysates // *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. Vol. 60, № 4. P. 1367–1369.
 28. Kratochvil D., Volesky B. Advances in biosorption of heavy metals // *Trends Biotechnol.* 1998. Vol. 16, iss. 7. P. 291–300.
 29. Vegliò F. Modelling of equilibrium heavy metal biosorption data at different pH: a possible methodological approach // *Eur. J. Mineral Process. Environ. Protect.* 2003. Vol. 3, № 1. P. 49–57.
 30. Tunali S., Çabuk A., Tamer A. Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil // *Chem. Eng. J.* 2006. Vol. 115. P. 203–211.
 31. Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии. СПб. : Химия, 1995. С. 150–178.