ЭКОБИОТЕХ
ISSN 2618-964X http://ecobiotech-journal.ru

УДК 579.695:579.22 UDC 579.695:579.22

Влияние металлов на образование биоплёнок нитрилгидролизующих бактерий активного ила *Alcaligenes faecalis* 2

Тарасова В.И.[1*], Максимова Ю.Г.[1,2]

[1] Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия
[2] Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, Россия
[*]E-mail: vi.i.tarasova@mail.ru

Аннотация

Целью данного исследования было изучение влияния ионов тяжелых металлов и магния на образование биопленок нитрилгидролизующих бактерий активного ила *Alcaligenes faecalis* 2. Изучали воздействие различных концентраций металлов (железа, кобальта, меди, цинка, магния, марганца) в среде культивирования. Было установлено, что наиболее выраженный эффект на формирование биоплёнки и рост в суспензии наблюдается при воздействии кобальта и меди, которые значительно подавляют рост бактерий, тогда как высокие концентрации железа стимулируют формирование биопленки. Биомасса биоплёнки увеличивалась при возрастании концентрации магния до 0,1 г/л. Полученные данные свидетельствуют о важной роли металлов в процессах формирования биопленок и могут быть полезны для разработки новых подходов к управлению активностью микроорганизмов в очистных сооружениях.

Ключевые слова

Alcaligenes faecalis ◆ ионы металлов ◆ биоремедиация ◆ очистка сточных вод ◆ биоплёнки

Поступила в редакцию: 17.03.2025
Принято в печать: 17.04.2025

The effect of metals on the biofilm formation by *Alcaligenes faecalis* 2, nitrile-hydrolyzing bacteria of activated sludge

Tarasova V.I.[1*], Maksimova Yu.G.[1,2]

[1] Perm State National Research University, Perm, Russia
[2] Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia
[*]E-mail: vi.i.tarasova@mail.ru

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of heavy metal and magnesium ions on biofilm formation by *Alcaligenes faecalis* 2 – nitrile hydrolyzing bacteria of activated sludge. The effects of different concentrations of metals (iron, cobalt, copper, zinc, magnesium, manganese) in the culture medium were studied. The most pronounced effects on biofilm formation and planktonic growth were observed under the influence of cobalt and copper, which significantly suppress bacterial growth, whereas high concentrations of iron stimulate biofilm formation. Biofilm biomass increased with increasing magnesium concentration to 0.1 g/L. The obtained data indicate the important role of metals in biofilm formation processes and can be useful for developing new approaches to managing microorganism activity in treatment facilities.

Keywords

Alcaligenes faecalis ◆ metal ions ◆ bioremediation ◆ wastewater treatment ◆ biofilms

Received: 17.03.2025
Accepted: 17.04.2025

Цитировать | Cite as

DOI: 10.31163/2618-964X/2025-13 EDN: LEPIXV

ВВЕДЕНИЕ

Промышленное производство и жизнедеятельность человека приводит к загрязнению окружающей среды, одним из проявлений которого является образование сточных вод. Сточные воды – любые воды и атмосферные осадки, отводимые в водоемы с территорий промышленных предприятий и населённых мест через систему канализации или самотёком, свойства которых ухудшились в результате деятельности человека [Маслова и др., 2018]. В необработанном виде сточные воды представляют собой серьёзную угрозу. Существует несколько видов очистки: механическая, физико-химическая и биологическая,

подразумевающая использование микроорганизмов, способных к биодеградации органических веществ сточных вод в ходе своей жизнедеятельности [Филатова, 2015; Zhang et al., 2016]. Биологическая очистка имеет следующие преимущества перед другими методами: микроорганизмы осуществляют полное разложение бытовых стоков до нейтральных продуктов (углекислый газ и вода), обеспечивая при этом круговорот веществ в природе; при этом не требуются высокие эксплуатационные расходы. Таким образом биологическая очистка является экономически выгодным, эффективным и экологически безопасным процессом [Максимов и др., 2014].

В биологической очистке сточных вод участвует активный ил – сообщество различных микроорганизмов в виде флокул, гранул и биоплёнок, включающее, прежде всего, бактерии, а также грибы, простейших и микроскопических животных [Сироткин и др., 2007]. Биоплёнки имеют ряд важных свойств, которые способствуют их использованию для очистки. Клетки в их составе устойчивы к экстремальным условиям и токсичным веществам, что обеспечивается внеклеточным матриксом, они отлично закрепляются на поверхностях, благодаря чему становятся устойчивыми к вымыванию. Всё это позволяет эффективно отделять очищенную воду от активного ила и увеличивать скорость протока жидкости. Для биоплёнок характерны стабильные скорости метаболических процессов, что также улучшает биологическую очистку [Максимов и др., 2014; Николаев, Плакунов, 2007].

Одним из типичных представителей активного ила являются протеобактерии *Alcaligenes faecalis*. Они способны осуществлять гетеротрофную нитрификацию и аэробную денитрификацию, что позволяет эффективно перерабатывать азотсодержащие соединения. Этот вид протеобактерий способен в условиях высокого содержания соли удалять аммонийный азот с минимальным образованием нитратов и нитритов, что снижает риск загрязнения окружающей среды. Такая уникальная способность делает *A. faecalis* ценным инструментом в биотехнологии и биоремедиации, особенно в области очистки сточных вод от аммиака [Демаков и др., 2015; Liu et al., 2015; Zhang et al., 2022; Zheng et al., 2020].

Биотехнологический потенциал *A. faecalis* многогранен. Например, штамм *A. faecalis* Alca F2018 продемонстрировал активность хитиндеацетилазы, которая трансформировала хитин в хитозан с высокой эффективностью. Полученный хитозан имел свойства, схожие с коммерческими продуктами. Помимо этого, *A. faecalis* играет ключевую роль в процессе разложения цианида и фенола благодаря своей способности эффективно разлагать оба этих загрязнителя. Штамм JF101 демонстрировал уникальную особенность: наличие цианида не только не подавляло деградацию фенола, но и ускоряло ее, причем клетки этого штамма использовали продукты распада цианида формамид и аммоний в качестве источников азота. Кроме того, *A. faecalis* выделяет внеклеточные щелочные протеазы, способные функционировать в условиях высоких температур и щелочной среды, что расширяет их применение в биотехнологиях [Amer et al., 2022; Li et al., 2025; Nies, 1995; Thangam et al., 2002].

Использование *A. faecalis* в очистных сооружениях основано на уникальных возможностях этой протеобактерии. В отличие от традиционных подходов, требующих разделения этапов обработки и жёсткого контроля условий, *A. faecalis* может проводить обе стадии удаления аммонийного азота в одной фазе аэрации, упрощая технологические процессы и снижая операционные издержки. Например, штамм *A. faecalis* C16, выделенный из активного ила очистных сооружений, демонстрирует высокую способность к удалению аммония с заметным накоплением нитрита, что подтверждает его потенциал для применения в системах очистки сточных вод, особенно тех, которые характеризуются высокими концентрациями органических веществ [Chen et al., 2021; Liu et al., 2015; Nuansawan et al., 2023].

Особенно актуальным становится использование *A. faecalis* для обработки сточных вод свиноводческих хозяйств, где концентрации аммония и органических веществ крайне высоки. Эти условия представляют серьёзные трудности для традиционной нитрификации с участием автотрофных бактерий, однако при использовании *A. faecalis* аэрирование сточных вод способствует значительному снижению выбросов аммиака, при этом большая часть аммония удерживается в микробной биомассе или трансформируется в газообразный азот. Это делает технологию экологически безопасной и экономически оправданной, особенно в условиях сельского хозяйства, где важен баланс между высокими концентрациями азота и углерода [Joo et al., 2005; Joo et al., 2006; Neerackal et al., 2016].

Также был разработан метод очистки сточных вод с помощью *A. faecalis,* образующего биоплёнки на поверхности биоугля. Эта бактерия поглощала фосфаты, благодаря чему достигалось улучшение качества очищенной воды [Wang et al., 2023].

Еще одно биотехнологическое применение *A. faecalis* – очистка сточных вод от лигноцеллюлозы. Лигноцеллюлоза – это сложный полимер клеточных стенок растений, состоящий из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина, часто встречающийся в сточных водах сельского хозяйства. Из-за сложной структуры лигноцеллюлоза с трудом поддается разложению. Штамм *A. faecalis* X3 способен разлагать лигноцеллюлозу благодаря комплексу ферментов, включающему целлюлазы. При этом в результате обработки образуются биофлокулянты, что способствует осаждению и удалению остатков лигноцеллюлозы и продуктов ее разложения [Chen et al., 2020].

Сточные воды содержат в себе различные загрязнители, в том числе металлы, такие как никель, хром, цинк, медь, кадмий, железо, свинец и многие другие. Эти металлы поступают в окружающую среду в составе промышленных стоков, что обусловливает их опасность для окружающей среды. Изучение устойчивости микроорганизмов к этим металлам позволяет разрабатывать методы борьбы с их негативным воздействием, в том числе и биологические, основанные на использовании биосорбентов [Демаков и др., 2015; Николаев, Плакунов, 2007]. Однако большинство исследований посвящено биотехнологическому применению бактерий и их биопленок для сорбции металлов, тогда как вопрос воздействия металлов на биопленкообразование прокариотов – типичных представителей сточных вод, остается не вполне выясненным.

Ранее сообщалось, что *A. faecalis* проявляет устойчивость к металлам, в частности, к кадмию (Cd(II)) [Neerackal et al., 2016]. При стрессе, вызванном высоким содержанием Cd(II), *A. faecalis* усиливает выработку внеклеточного полимерного вещества (англ. *extracellular polymeric substance*s, EPS), содержащего белки, которые играют важную роль в защите клетки от токсического воздействия металла. Максимальные уровни продукции EPS наблюдались при концентрациях Cd(II) 20 и 50 мг/л, что свидетельствует о значительной адаптивной реакции организма. Увеличение количества белков в EPS положительно коррелирует с улучшением адсорбционных способностей микроорганизма, что потенциально может применяться для предотвращения и контроля загрязнений металлами [Lian et al., 2022].

Также было выяснено, что близкородственные виды *A. eutrophus* NCCP-650 T и *A. pakistanensis* NCCP-667 обладают устойчивостью к различным металлам. *A. eutrophus* устойчив к кобальту, цинку и кадмию благодаря транспортному комплексу CzcABC, который выводит катионы металлов из клетки [Abbas et al., 2015; Nies, 1995].

Такие металлы, как железо, медь, кобальт, цинк, марганец были выбраны для изучения резистентности *A. faecalis* по нескольким причинам. Данные металлы широко распространены в промышленных стоках и активно используются в производстве, что делает их ключевыми загрязнителями окружающей среды. Кроме того, эти металлы склонны накапливаться в экосистемах, что усугубляет экологические риски. Наконец, исследование устойчивости к

различным металлам помогает раскрыть защитные механизмы микроорганизмов, такие как синтез внеклеточных полимеров и работа транспортных систем, что важно для разработки эффективных методов биоремедиации.

Целью работы явилось сравнение влияния ионов металлов (железа, меди, кобальта, цинка, марганца и магния) на рост *A. faecalis* 2 в суспензии и биоплёнках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования и условия культивирования. *A. faecalis* 2 был выделен из активного ила БОС г. Перми и поддерживается в лаборатории молекулярной биотехнологии ИЭГМ УрО РАН – филиала ПФИЦ УрО РАН [Демаков и др., 2015]. Штамм культивировали на минеральной среде составом (г/л): KH_2PO_4 – 1; K_2HPO_4 – 3,75 г; NaCl – 0,5. Раствор микроэлементов (г/л): $MgSO_4 * 7\ H_2O$ – 200; $CoCl_2 * 6\ H_2O$ – 4; $FeSO_4 * 7\ H_2O$ добавляли в объеме 2,5 мл на 1 л среды. В качестве источника углерода и азота вносили ацетамид до конечной концентрации 50 мМ. Инокулят выращивали в колбах объемом 100 мл, содержащих 20 мл среды, на орбитальном шейкере при 160 об/мин и температуре 28°С.

Для получения концентрации ионов металлов в растворе, равной 0,001, 0,01 и 0,1 г/лделали десятикратные разведения исходных растворов сульфатов металлов (1 г/л): $FeSO_4$; $CuSO_4$; $CoSO_4 * 7\ H_2O$; $ZnSO_4 * 7\ H_2O$; $MgSO_4 * 7\ H_2O$; $MnSO_4 * 7\ H_2O$. Для упрощения представления данных в расчет не принимали концентрации ионов металлов, вносимых с микроэлементами, и считали их "фоновыми" концентрациями. Минеральную среду с микроэлементами принимали за контроль. Для изучения влияния ионов меди, в отличие от других металлов, были выбраны более низкие концентрации (не более 0,05 г/л), поскольку медь обладает выраженными антибактериальными свойствами.

Также исследовали воздействие металлов в более широком диапазоне концентраций (0,00005-0,04 г/л). для этого смешивали питательную среду и растворы солей металлов с концентрациями 0,001, 0,01 и 0,1 г/л в соотношении, указанном в табл. 1. Результаты выражали как отношение ОП540 экстрагированного красителя кристаллического фиолетового после окраски биоплёнки к ОП600 суспензии.

Все среды и растворы предварительно автоклавировали в течение 1 часа при 121ºС.

Табл. 1. **Получение растворов сульфатов металлов, г/л**

Содержание раствора соли металла, % / Растворы металлов, г/л	5	10	20	30	40
0,001	0,00005	0,0001	0,0002	0,0003	0,0004
0,01	0,0005	0,001	0,002	0,003	0,004
0,1	0,005	0,01	0,02	0,03	0,04

Оценка биопленкообразования и роста *A. faecalis* 2 в суспензии. В лунки 96-луночного прозрачного плоскодонного полистиролового планшета (Медполимер, Россия) вносили 100 мкл синтетической минеральной среды с ацетамидом и инокулировали 10 мкл суспензии нитрилутилизирующих бактерий *A. faecalis* 2. В среду культивирования вносили 12 мкл растворов металлов до конечной концентрации 0,01, 0,1 и 1%.

Биопленки выращивали 2–3 суток в термостате при 28–30ºС без перемешивания. Рост оценивали по изменению ОП600 (оптической плотности при λ 600 нм) суспензии на планшетном ридере Infinite M1000 pro (TECAN, Швейцария). Затем планктонные клетки удаляли из лунок, отмывали биопленку 150 мкл 0,9% NaCl дважды, удаляли физраствор и

окрашивали 0,1% раствором кристаллического фиолетового. В лунки вносили 150 мкл красителя и инкубировали 40 минут в темноте. Далее краситель удаляли и отмывали биопленку 150 мкл 0,9% NaCl, после этого экстрагировали краситель 150 мкл 96% спирта и через 20 минут измеряли ОП540 на планшетном ридере.

Статистический анализ результатов проводили с помощью стандартного пакета лицензионной программы MS Excel 2007, определяли среднее арифметическое, стандартное отклонение, стандартную ошибку среднего. Достоверность различий определяли с использованием критерия Стьюдента, варьирование результатов подчинялось закону нормального распределения. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ (n = 8–16).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценена биомасса биопленки *A. faecalis* 2, сформированной при росте на минеральной среде с ацетамидом в качестве источника углерода в присутствии ионов железа, меди, кобальта, цинка, магния, марганца в концентрации от 0,01 до 0,1 г/л. Установлено, что в наибольшей степени рост суспендированных клеток подавляли ионы кобальта и при снижении концентрации негативный эффект увеличивался (рис. 1). Рост клеток в суспензии составил 9 и 36% от контроля в присутствии ионов кобальта в концентрациях 0,01 и 0,1 г/л соответственно. Протестированные ионы металлов в изученных концентрациях обладали подавляющим эффектом как на суспендированные клетки, так и на биоплёнки. Исключение составляли ионы железа (рис. 1, 2). В присутствии ионов железа показатели процентного отношения ОП600 суспензии к контролю составили 114 и 135% при концентрациях 0,01 и 0,1 г/л соответственно, показатели ОП540 экстрагированного из биопленок красителя кристаллического фиолетового при концентрации ионов железа в среде 0,01 г/л также продемонстрировали незначительный прирост до 109%, а при концентрации 0,1 г/л наблюдали снижение биомассы биопленок (до 83% от контроля) (рис. 1, 2). Снижение ОП600 суспензии наблюдали при уменьшении концентрации ионов в среде, исключение составляли цинк (66% от контроля вне зависимости от концентрации) и медь (при снижении концентрации процент от контроля увеличился с 25% до 28%) (рис.1).

Наибольшее подавляющее воздействие на биоплёнки, также, как и на суспендированные клетки, оказали ионы кобальта, показатели прироста биомассы биопленки уменьшались с увеличением концентрации ионов: 15 и 12% при 0,01 и 0,1 г/л ионов кобальта в среде соответственно (рис. 2). Также в отличие от роста в суспензии, биомасса биоплёнок увеличивалась при снижении концентрации ионов железа, кобальта, марганца. При повышении концентрации цинка и меди наблюдали снижение биомассы биопленок. Возрастание концентрации магния в среде культивирования от 0,01 до 0,1 г/л привело к увеличению биомассы биоплёнки на 28%.

Концентрации металлов на диаграммах представлены в виде процентного содержания исходных растворов металлов (0,001, 0,01 и 0,1 г/л). Основной тенденцией стало снижение биоплёнкообразования и повышение оптической плотности суспензии при повышении концентрации металлов в этих пределах, однако для магния и марганца эта тенденция не была выявлена (рис. 3, 4, 5). Марганец в изученных концентрациях незначительно снижает рост в суспензии, однако подавляет и биоплёнкообразование. Ионы кобальта оказывали наиболее выраженное подавляющее воздействие на рост как суспендированных клеток, так и биоплёнок *A. faecalis* 2, при этом негативное влияние усиливалось с увеличением концентрации. В отличие от кобальта, ионы железа стимулировали рост биоплёнок при низких концентрациях, но при повышении концентрации до 0,1 г/л наблюдали незначительное снижение биомассы.

Ионы цинка и меди также подавляли рост биоплёнок, однако их влияние менее выражено по сравнению с кобальтом. Ионы магния, напротив, способствовали увеличению биомассы биоплёнок при повышении их концентрации в среде.

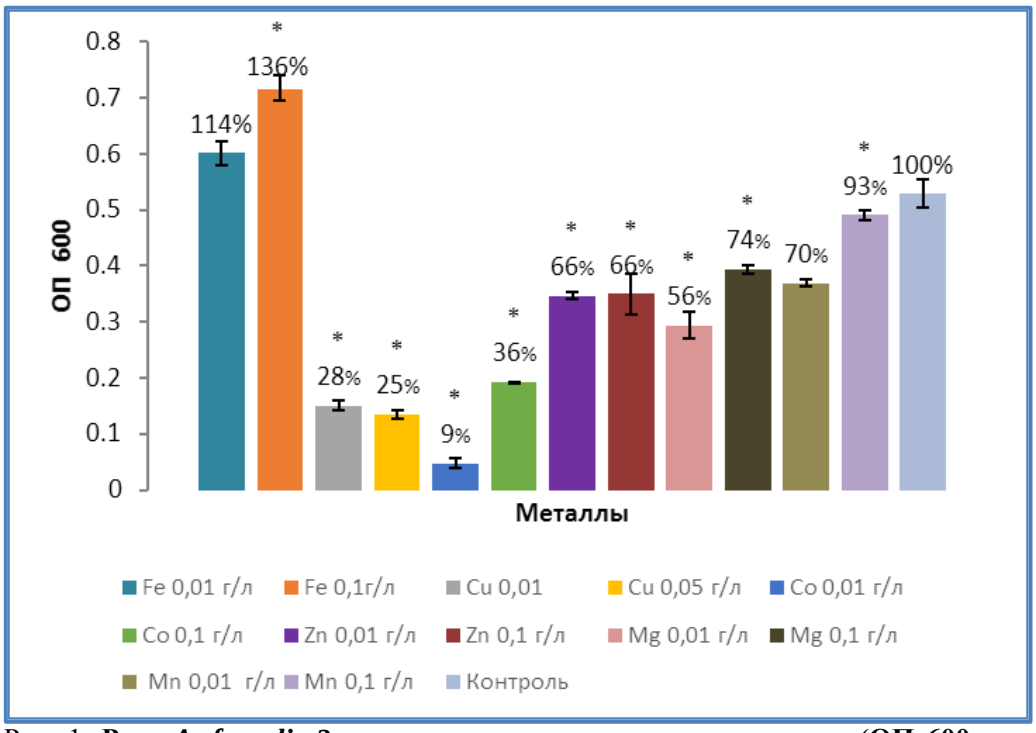

Рис. 1. **Рост *A. faecalis 2* в суспензии в присутствии металлов (ОП 600 при культивировании на минеральной среде), *p < 0,05, указаны проценты от контроля.**

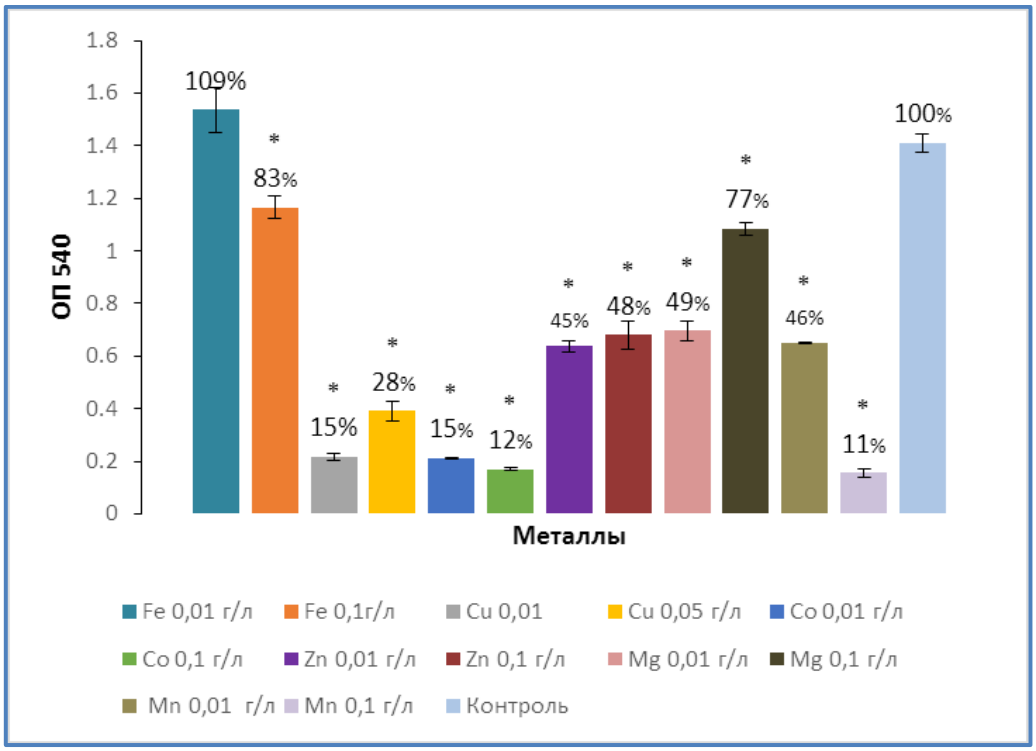

Рис. 2. **Рост *A. faecalis 2* в биоплёнке в присутствии металлов, оцененный по ОП540 экстрагированного красителя кристаллического фиолетового, *p < 0,05, указаны проценты от контроля.**

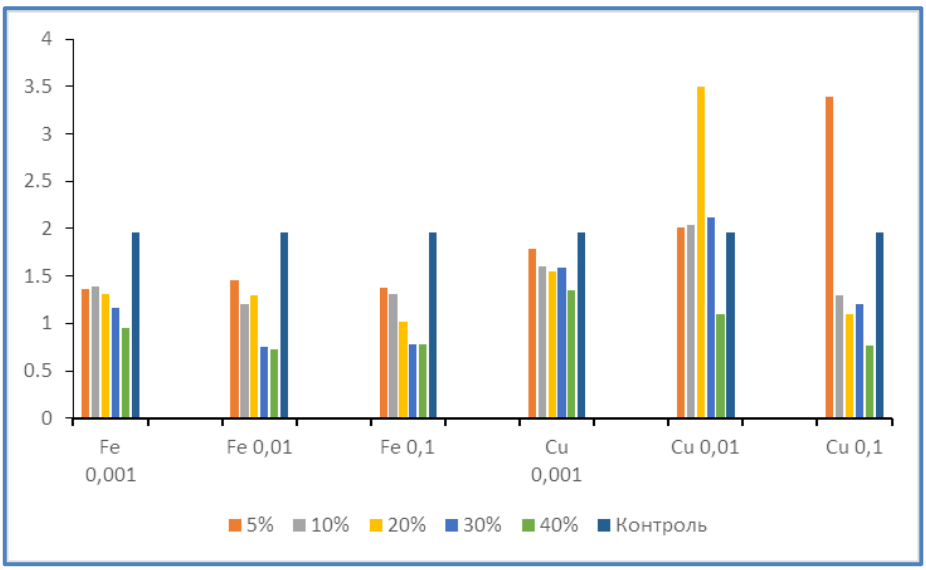

Рис. 3. **Отношение роста *A. faecalis 2* в биоплёнке к росту в суспензии в присутствии железа и меди (ОП540 / ОП600)**

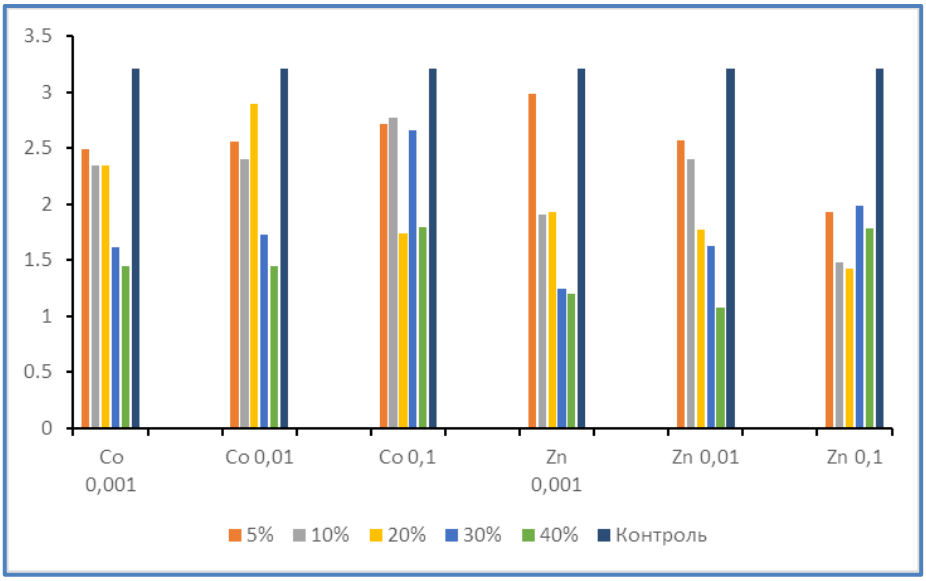

Рис. 4. **Отношение роста *A. faecalis 2* в биоплёнке к росту в суспензии в присутствии кобальта и цинка (ОП540 / ОП600)**

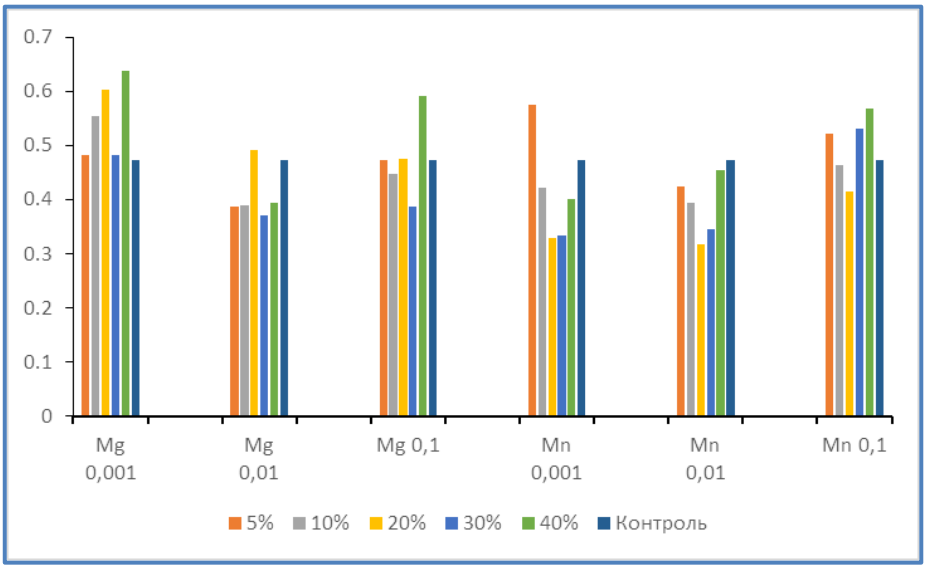

Рис. 5. **Отношение роста *A. faecalis 2* в биоплёнке к росту в суспензии в присутствии магния и марганца (ОП540 / ОП600).**

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, воздействие ионов металлов на планктонную и биоплёночную культуру *A. faecalis* в большинстве изученных вариантов подчинялось следующей зависимости: при увеличении концентрации ионов металлов, за исключением железа, снижается накопление биомассы как в суспензии, так и в биопленке.

Наиболее активно подавляют рост медь и кобальт, что находится в противоречии с данными, полученными в работе [Nies, 1995]. Несмотря на то, что медь и кобальт являются кофакторами ферментов и необходимы клетке в качестве микроэлементов, их токсичность достаточно высока. По-видимому, устойчивость к металлам у бактерий в значительной мере штаммоспецифична.

Добавление железа стимулирует рост суспензии и биоплёнок, за исключением концентрации 0,1 г/л, при которой наблюдалось снижение накопления биомассы биоплёнки на 17%.

Известно, что некоторые металлы способствуют формированию микробной биоплёнки и поддерживают ее толщину. Например, ион магния усиливает гидрофобность бактериальных клеток, что улучшает их прикрепление к поверхности биопленки. Также агрегация клеток *Xylella fastidi* определяется балансом концентраций цинка и марганца: цинк снижает адгезию клеток, а марганец, наоборот, увеличивает образование биопленки [Jasu et al., 2021]. В нашем исследовании, наоборот, показано значительное снижение биомассы биоплёнки *A. faecalis* 2 при увеличении концентрации марганца до 0,1 г/л, тогда как такая концентрация не подавляла рост планктонной формы. На основании полученных нами результатов можно говорить только о незначительном стимулирующем влиянии железа в концентрации 0,01 г/л относительно контроля и достоверном увеличении биомассы биопленки при возрастании концентрации магния, который не является тяжелым металлом. Вероятно, это связано с низкой токсичностью железа и магния для прокариотов. Другие ионы в изученном диапазоне концентраций подавляли биоплёнкообразование *A. faecalis* 2.

При уменьшении концентрации ионов металлов наблюдается увеличение биоплёнкообразования и снижение оптической плотности суспензии. Это свидетельствует о том, что низкие концентрации ионов стимулируют переход клеток из суспензии в биоплёнку. Исключение составляли магний и марганец, воздействие которых не следовало этой общей тенденции, что указывает на их специфическое взаимодействие с культурой *A. faecalis* (рис. 1, 2). Концентрационная зависимость воздействия ионов металлов на рост бактерий в суспензии и формирование биоплёнок достаточно сложна и связана с разнонаправленным влиянием на жизнедеятельность клетки: несмотря на отрицательное действие ионов тяжелых металлов на макромолекулы и мембрану, они участвуют в функционировании ферментов и транспортных процессов клетки. В свою очередь, образование биоплёнки у микроорганизмов является приспособительным механизмом и может быть ответом на воздействие стрессовых факторов среды, но подавляется при значительном повышении уровня этого фактора.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Биоразнообразие микроорганизмов в антропогенно-загрязненных экосистемах и функционально-генетические механизмы их адаптации к стрессовым условиям внешней среды», регистрационный номер 124020500028-4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Демаков В.А., Васильев Д.М., Максимова Ю.Г., Павлова Ю.А., Овечкина Г.В., Максимов А.Ю. (**2015**) Бактерии активного ила биологических очистных сооружений, трансформирующие цианопиридины и амиды пиридинкарбоновых кислот. *Микробиология*. **84**(3): 369–378. https://doi.org/10.7868/s0026365615030039

Максимов С.П., Алексеев И.А. (**2014**) Обзор методов биологической очистки сточных вод. *Технические науки–от теории к практике*. (**41**): 95–101.

Маслова А.А., Фурсова Д.С. (**2018**) Сточные воды и их очистка. *Доклады XX Международной научно-технической конференции «Современные проблемы экологии»*. 2018 г. Инновационные технологии. Тула: 49–50.

Николаев Ю.А., Плакунов В.К. (**2007**) Биопленка - «город микробов» или аналог многоклеточного организма?. *Микробиология*. **76**(2): 149–163.

Сироткин А.С., Шагинурова Г.И., Ипполитов К.Г. (**2007**) Агрегация микроорганизмов: флокулы, биопленки, микробные гранулы. Фэн. Казань: 160.

Филатова Е.Г. (**2015**) Обзор технологий очистки сточных вод от ионов металлов, основанных на физико-химических процессах. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. (2): 97–109.

Abbas S., Ahmed I., Iida T., Lee Y.J., Busse H.J., Fujiwara T., Ohkuma M. (**2015**) A heavy-metal tolerant novel bacterium, *Alcaligenes pakistanensis* sp. nov., isolated from industrial effluent in Pakistan. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. **108**(4): 859–870. https://doi.org/10.1007/s10482-015-0540-1

Amer O.A., Ali S.S., Azab M., El-Shouny W.A., Sun J., Mahmoud Y.A.G. (2022) Exploring new marine bacterial species, *Alcaligenes faecalis* Alca F2018 valued for bioconversion of shrimp chitin to chitosan for concomitant biotechnological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **196**: 35–45. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.033

Chen J., Xu J., Zhang S., Liu F., Peng J., Peng Y., Wu J. (2021) Nitrogen removal characteristics of a novel heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacteria, *Alcaligenes faecalis* strain WT14. *Journal of Environmental Management*. **282**: 111961. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.111961

Chen S., Sun S., Zhong C., Wang T., Zhang Y., Zhou J. (2020) Bioconversion of lignocellulose and simultaneous production of cellulase, ligninase and bioflocculants by *Alcaligenes faecalis*-X3. *Process Biochemistry*. **90**: 58–65. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.11.008

Jasu A., Ray R.R. (2021) Biofilm mediated strategies to mitigate heavy metal pollution: A critical review in metal bioremediation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. **37**: 102183. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102183

Joo H.S., Hirai M., Shoda M. (**2005**) Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* no. 4. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **100**(2): 184–191. https://doi.org/10.1263/jbb.100.184

Joo H.S., Hirai M., Shoda M. (**2006**) Piggery wastewater treatment using Alcaligenes faecalis strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification. *Water Research*. **40**(16): 3029–3036. https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.021

Lian Z., Yang Z., Song W., Sun M., Gan Y., Bai X. (**2022**) Characteristics of EPS from *Pseudomonas aeruginosa* and *Alcaligenes faecalis* under Cd(II) stress: changes in chemical components and adsorption performance. *Environmental Science and Pollution Research*. **29**: 75883–75895. https://doi.org/10.1007/s11356-022-21114-z

Li Q., Yan S., Jiang Z., Xian L., Du J., Liu H., Liu Y. (**2025**) Co-biodegradation of cyanide and phenol by *Alcaligenes faecalis* JF101: Investigating interaction effects. *International Biodeterioration & Biodegradation*. **198**: 105996. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2024.105996

Liu Y., Wang Y., Li Y., An H., Lv Y. (**2015**) Nitrogen removal characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* C16. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. **23**(5): 827–834. https://doi.org/10.1016/j.cjche.2014.04.005

Neerackal G.M., Ndegwa P.M., Joo H.S., Wang X., Frear C.S., Harrison J.H., Beutel M.W. (**2016**) Potential application of *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 in mitigating ammonia emissions from dairy wastewater. *Bioresource Technology*. **206**: 36–42. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.063

Nies D.H. (**1995**) The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*. **177**(10): 2707–2712. https://doi.org/10.1128/jb.177.10.2707-2712.1995

Nuansawan N., Witthayaphirom C., Chiemchaisri C., Shoda M. (**2023**) Removals of emerging contaminants from municipal waste leachate by *Alcaligenes faecalis* no.4 and acclimated activated sludge cultures. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*. **8**: 100524. https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100524

Thangam E.B., Rajkumar G.S. (**2002**) Purification and characterization of alkaline protease from *Alcaligenes faecalis*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. **35**(2): 149–154. https://doi.org/10.1042/ba20010013

Wang C., Wang G., Xie S., Dong Z., Zhang L., Zhang Z., Song J., Deng Y. (**2023**) Phosphorus-rich biochar modified with *Alcaligenes faecalis* to promote U(VI) removal from wastewater: Interfacial adsorption behavior and mechanism. *Journal of Hazardous Materials*. **454**: 131484. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131484

Zhang Q., Zhu Y., Yuan C., Zhang C., Cui M., Zhao T. (**2022**) Nitrogen removal and mechanism of an extremely high-ammonia tolerant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Alcaligenes faecalis* TF-1. *Bioresource Technology*. **361**: 127643. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127643

Zhang Y.B., Zhou J., Xu Q.M., Cheng J.S., Luo Y.L., Yuan Y.J. (**2016**) Exogenous cofactors for the improvement of bioremoval and biotransformation of sulfamethoxazole by *Alcaligenes faecalis*. *Science of the Total Environment*. **565**: 547–556. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.063

Zheng L., Xu Y., Hua Y., Dai X. (**2020**) Effect of environmental factors on the synergistic denitrification of *Alcaligenes faecalis* and ammonia oxidizing bacteria: A preliminary study. *Desalination and Water Treatment*. **192**: 118–126. https://doi.org/10.5004/dwt.2020.25617

REFERECES

Demakov V.A., Vasil'ev D.M., Pavlova Y.A., Pavlova Yu.A., Ovechkina G.V., Maksimov A.Yu. (**2015**) Activated sludge bacteria transforming cyanopyridines and amides of pyridinecarboxylic acids. *Microbiology*. **84**(3): 433–441. https://doi.org/10.1134/S0026261715030030

Maksimov S., Alekseev I. (**2014**) Overview of biological methods of sewage refining. *Technical Sciences – from theory to practice*. (41): 95–101. (in Rus.)

Maslova A.A., Fursova D.S. (**2018**) Wastewater and its purification. Reports of the XX International Scientific and Technical Conference "Modern problems of ecology". 2018. Innovative technologies. Tula: 49-51. (in Rus.)

Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. (**2007**) Biofilm – "city of microbes" or an analogue of multicellular organisms? *Microbiology*. **76**(2): 125–138. https://doi.org/10.1134/S0026261707020014

Sirotkin A.S., Shaginurova G.I., Ippolitov K.G. (**2007**) Aggregation of microorganisms: floccules, biofilms, microbial granules. Publishing house "Feng" of the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan. Kazan: 160. (in Rus.)

Filatova E.G. (**2015**) Wastewater treatment from heavy metal ions, based on the physico-chemical processes. Review. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. (2): 97–109. (in Rus.)

Abbas S., Ahmed I., Iida T., Lee Y.J., Busse H.J., Fujiwara T., Ohkuma M. (**2015**) A heavy-metal tolerant novel bacterium, *Alcaligenes pakistanensis* sp. nov., isolated from industrial effluent in Pakistan. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. **108**(4): 859–870. https://doi.org/10.1007/s10482-015-0540-1

Amer O.A., Ali S.S., Azab M., El-Shouny W.A., Sun J., Mahmoud Y.A.G. (**2022**) Exploring new marine bacterial species, *Alcaligenes faecalis* Alca F2018 valued for bioconversion of shrimp chitin to chitosan for concomitant biotechnological applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **196**: 35–45. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.033

Chen J., Xu J., Zhang S., Liu F., Peng J., Peng Y., Wu J. (**2021**) Nitrogen removal characteristics of a novel heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacteria, *Alcaligenes faecalis* strain WT14. *Journal of Environmental Management*. **282**: 111961. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.111961

Chen S., Sun S., Zhong C., Wang T., Zhang Y., Zhou J. (**2020**) Bioconversion of lignocellulose and simultaneous production of cellulase, ligninase and bioflocculants by *Alcaligenes faecalis*-X3. *Process Biochemistry*. **90**: 58–65. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.11.008

Jasu A., Ray R.R. (**2021**) Biofilm mediated strategies to mitigate heavy metal pollution: A critical review in metal bioremediation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. **37**: 102183. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102183

Joo H.S., Hirai M., Shoda M. (**2005**) Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* no. 4. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **100**(2): 184–191. https://doi.org/10.1263/jbb.100.184

Joo H.S., Hirai M., Shoda M. (**2006**) Piggery wastewater treatment using Alcaligenes faecalis strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification. *Water Research*. **40**(16): 3029–3036. https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.021

Lian Z., Yang Z., Song W., Sun M., Gan Y., Bai X. (**2022**) Characteristics of EPS from *Pseudomonas aeruginosa* and *Alcaligenes faecalis* under Cd(II) stress: changes in chemical components and adsorption performance. *Environmental Science and Pollution Research*. **29**: 75883–75895. https://doi.org/10.1007/s11356-022-21114-z

Li Q., Yan S., Jiang Z., Xian L., Du J., Liu H., Liu Y. (**2025**) Co-biodegradation of cyanide and phenol by *Alcaligenes faecalis* JF101: Investigating interaction effects. *International Biodeterioration & Biodegradation*. **198**: 105996. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2024.105996

Liu Y., Wang Y., Li Y., An H., Lv Y. (**2015**) Nitrogen removal characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* C16. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. **23**(5): 827–834. https://doi.org/10.1016/j.cjche.2014.04.005

Neerackal G.M., Ndegwa P.M., Joo H.S., Wang X., Frear C.S., Harrison J.H., Beutel M.W. (**2016**) Potential application of *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 in mitigating ammonia emissions from dairy wastewater. *Bioresource Technology*. **206**: 36–42. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.063

Nies D.H. (**1995**) The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*. **177**(10): 2707–2712. https://doi.org/10.1128/jb.177.10.2707-2712.1995

Nuansawan N., Witthayaphirom C., Chiemchaisri C., Shoda M. (**2023**) Removals of emerging contaminants from municipal waste leachate by *Alcaligenes faecalis* no.4 and acclimated activated sludge cultures.

Case Studies in Chemical and Environmental Engineering. **8**: 100524. https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100524

Thangam E.B., Rajkumar G.S. (**2002**) Purification and characterization of alkaline protease from *Alcaligenes faecalis*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. **35**(2): 149–154. https://doi.org/10.1042/ba20010013

Wang C., Wang G., Xie S., Dong Z., Zhang L., Zhang Z., Song J., Deng Y. (**2023**) Phosphorus-rich biochar modified with *Alcaligenes faecalis* to promote U(VI) removal from wastewater: Interfacial adsorption behavior and mechanism. *Journal of Hazardous Materials*. **454**: 131484. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131484

Zhang Q., Zhu Y., Yuan C., Zhang C., Cui M., Zhao T. (**2022**) Nitrogen removal and mechanism of an extremely high-ammonia tolerant heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Alcaligenes faecalis* TF-1. *Bioresource Technology*. **361**: 127643. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127643

Zhang Y.B., Zhou J., Xu Q.M., Cheng J.S., Luo Y.L., Yuan Y.J. (**2016**) Exogenous cofactors for the improvement of bioremoval and biotransformation of sulfamethoxazole by *Alcaligenes faecalis*. *Science of the Total Environment*. **565**: 547–556. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.063

Zheng L., Xu Y., Hua Y., Dai X. (**2020**) Effect of environmental factors on the synergistic denitrification of *Alcaligenes faecalis* and ammonia oxidizing bacteria: A preliminary study. *Desalination and Water Treatment*. **192**: 118–126. https://doi.org/10.5004/dwt.2020.25617

Цитировать как
Тарасова В.И., Максимова Ю.Г. (**2025**) Влияние металлов на образование биоплёнок нитрилгидролизующих бактерий активного ила *Alcaligenes faecalis* 2. *Экобиотех*. **8** (2): 165-176. DOI: 10.31163/2618-964X/2025-13 EDN: LEPIXV

Cited as
Tarasova V.I., Maksimova Yu.G. (**2025**) The effect of metals on the biofilm formation by *Alcaligenes faecalis* 2, nitrile-hydrolyzing bacteria of activated sludge. *Ecobiotech*. **8** (1): 165-176. DOI: 10.31163/2618-964X/2025-13 EDN: LEPIXV

Сведения об авторах

Виктория Игоревна Тарасова, Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия. E-mail: vi.i.tarasova@mail.ru, ORCID: 0009-0007-7357-854X

Юлия Геннадьевна Максимова, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия; Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, Россия. E-mail: yul_max@mail.ru, AuthorID: 132461, ORCID: 0000-0003-1870-1369

Information About the Authors

Victoriya I. Tarasova, Perm State National Research University, Perm, Russian Federation. E-mail: vi.i.tarasova@mail.ru, ORCID: 0009-0007-7357-854X

Yuliya G. Maksimova, Doctor of Biological Sciences, Perm State National Research University, Perm, Russia Federation; Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia Federation. E-mail: yul_max@mail.ru, AuthorID: 132461, ORCID: 0000-0003-1870-1369