

ВЛИЯНИЕ антиоксидантов НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ ТРАНСФОРМАЦИЮ нефти

Исследовано влияние четырех антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, маннита, ацетата α -токоферола и инола) на трансформацию нефти пятью штаммами морских нефтеокисляющих микроорганизмов видов *Achromobacter xylosoxidans* и *Acinetobacter calcoaceticus*, а также *Bacillus subtilis*. Установлено, что антиоксиданты в концентрации 1 мМ в различной степени ингибируют микробиологическую утилизацию нефти или ее отдельных фракций (углеводородов, смол и асфальтенов).



Введение

Изучение микробиологического метаболизма нефти в основном сосредоточено на ферментативных путях аэробной биodeградации различных углеводов [1–3], а также их анаэробного катаболизма [4–7].

Основной фактор, влияющий на доступность углеводов для бактериального окисления, объясняется наличием у микроорганизмов соответствующей системы ферментов. Но к настоящему моменту накоплены данные, указывающие на то, что реакции с участием активных форм кислорода (АФК) могут быть начальным этапом усвоения микроорганизмами нефти. Впервые гипотеза об участии АФК в микробиологической деградации нефти была сформулирована в наших работах [8, 9].

Необходимо отметить, что эффективными генераторами АФК могут быть сами микроорганизмы. Супероксид-анион образуется в клетках бактерий при одноэлектронном восстановлении молекулярного кислорода ферментами электрон-транспортной цепи.

И.С. Сазыкин*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории промышленных микроорганизмов, ФГБОУ ВПО Южный федеральный университет (Научно-исследовательский институт биологии)

М.А. Сазыкина, кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией промышленных микроорганизмов, ФГБОУ ВПО Южный федеральный университет (Научно-исследовательский институт биологии)

Генерация перекиси водорода при переносе двух электронов на молекулу кислорода характерна для некоторых ферментов, содержащих флавины. Эти ферменты восстанавливают O_2 до иона пероксида O_2^{2-} , который, реагируя с протонами, образует H_2O_2 [10].

Многие процессы аэробного метаболизма углеводов в качестве первых этапов включают в себя окисление субстрата при помощи бактериальных цитохромов [11–14], и это окисление опосредовано радикалами, образующимися в активном центре [15, 16]. Подобные ферментативные реакции сопровождаются шунтированием ферментативного цикла цитохромов с образованием реакционноспособных форм кислорода (пероксид водорода, супероксид-анион). При этом образуется некоторое количество свободных радикалов, которые могут участвовать в окислении высокомолекулярных субстратов, недоступных ферментным системам микроорганизма.

Хорошо известны углеводород-редуцирующие микроорганизмы, активно выделяющие в окружающую среду перекись водорода. Очевидна важность этого механизма для конкурентной межвидовой борьбы и показана его роль в образовании биопленок [17], но не показан его потенциальный

*Адрес для корреспонденции: zebra-sis@yandex.ru

вклад в неферментативное окисление соединений нефти и повышение их биологической доступности.

Многие микроорганизмы и растения используют в конкурентной борьбе соединения окислительно-восстановительного цикла, такие как феназины, хиноны и виологены. Они экскретируют подобные вещества во внеклеточное пространство, где они продуцируют супероксид-анион радикал. Это происходит путем окисления окислительно-восстановительных ферментов и переноса электронов на молекулярный кислород [18, 19].

Кроме того, некоторые микроорганизмы способны синтезировать такой вид АФК, как оксид азота II (NO). Причем большая часть родов, представители которых имеют NO-синтетазу (L-аргинин-оксигеназу), также представлена нефтьдеградирующими микроорганизмами. Бактериальная NO-синтаза может вносить свой вклад в свободнорадикальное окисление соединений нефти. Кроме собственно оксида азота, этот фермент образует пероксид водорода, супероксид-анион и органические радикалы [20].

Косвенно в пользу образования АФК говорит и наличие связанных с метаболизмом углеводов пероксидаз, индуцируемых углеводородами [21 – 23].

Установлено [24], что в нефтеокисляющей термофильной бактерии *Geobacillus thermoleovorans* В23 в процессе инкубации с алканами индуцируются ацетил-КоА-оксидаза, каталаза и супероксиддисмутаза. На начальном этапе β -окисления алканов при действии ацетил-КоА-оксидазы образуются АФК, а каталаза и супероксиддисмутаза защищают клетку от их токсического действия. Эти процессы функционально сходны с происходящими в пероксисомах эукариот.

Продукция АФК нефтеокисляющими микроорганизмами позволяет утверждать, что при биодegradации углеводов происходят биогенные процессы, подобные реакции Фентона [9]. Единственный биогенный неферментативный свободнорадикальный процесс микробиологической деградации каких-либо веществ, описанный в литературе, — это биодegradация бурой гнилью широко распространенного в природе полимера — целлюлозы. В этом процессе задействованы низкомолекулярные экскретируемые вещества грибов, такие как пероксид водорода, соединения железа и щавелевая кислота [25].

Для прояснения вопроса об участии АФК в трансформации соединений нефти нефтеокисляющими микроорганизмами провели исследование ингибирования этого процесса четырьмя антиоксидантами (АО) — аскорбиновой кислотой, маннитолом, ацетатом α -токоферола и ионолом.

Материалы и методы исследования

В исследовании использованы штаммы *Achromobacter xylosoxidans* ВКПМ В-10344, № 5, № 7 и штаммы *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ В-10353, № 6, выделенные из воды и донных отложений прибойной зоны Керченского пролива в ноябре 2007 г., а также *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1895.

Нефтеокисляющие микроорганизмы выращивали в 50-мл конических колбах, содержащих 15 мл минеральной среды Ворошиловой-Диановой [26] с добавлением 2 % (300 мкл) сырой нефти в шейкере-инкубаторе ES-20 («Biosan», Латвия) в течение 7 сут при температуре 30 °С и скорости вращения платформы 220 об/мин. Контролем служили незасеянные колбы со средой Ворошиловой и Диановой с добавлением аналогичного количества нефти.

Для определения ингибирования окисления углеводов сырой нефти микроорганизмами в питательную среду для определения пофракционной биодegradации нефти вносили аскорбиновую кислоту, маннитол, ацетат α -токоферола и ионол (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол) («Sigma-Aldrich», США). АО вносили в конечной концентрации 1 мМ. Эксперименты проводились в 3-х повторностях.

В работе использована нефть Октябрьского месторождения Ростовской области. Основные групповые компоненты нефти определяли методами тонкослойной хроматографии в сочетании с инфракрасной, ультрафиолетовой и люминесцентной спектроскопией [27–30]. Данные методы входят в перечень методик выполнения измерений для целей государственного и производственного контроля в области природопользования и охраны окружающей среды.

Измерение оптических характеристик растворов углеводов, смол и асфальтенов проводили на ИК-спектрофотометре IR-270 («Hitachi», Япония), УФ-спектрофотометре UV-2450 («Shimadzu», Япония), спектрофлуориметрах RF-510 и RF-5301PC («Shimadzu», Япония).

Результаты и их обсуждение

В исходной нефти на долю углеводородной фракции приходилось 87,6 %, смолистой фракции — 9,2 %, асфальтеновой фракции — 3,2 %. При этом доля летучих компонентов, теряющихся при пробоподготовке, составила 21,3 %.

Результаты анализа образцов исходной нефти после всех стадий подготовки приведены в табл. 1.

В табл. 1 приведены также данные по изменению количества различных фракций нефти и их суммы в абсолютных величинах и процентах в результате инкубации с микроорганизмами без АО и в их присутствии.

Безусловным ингибитором биодegradации нефти для всех тестируемых штаммов является ионол, активность которого колебалась от полного подавления биодegradации углеводородной фракции и почти полного подавления биодegradации нефти у *A. calcoaceticus*, штамм ВКПМ В-10353, до подавления деструкции углеводородов на 43 % и незначительного подавления деструкции нефти в целом на 2 % в случае *B. subtilis*.

Аскорбиновая кислота проявила очень высокую ингибирующую активность в отношении дегradации нефти двумя исследованными штаммами *A. xylosoxidans* (от почти полного ингибирования до снижения уровня утилизации нефти более чем в три раза), но оказалась малоэффективна в отношении биодegradации углеводородов штаммами *A. calcoaceticus* и *B. subtilis*.

Сходным образом проявил ингибирующие свойства в отношении биотрансформации нефти маннитол.

α -токоферол, с разной степенью эффективности, подавил утилизацию нефти штаммами *A. xylosoxidans*, *B. subtilis* и *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353, но оказался неэффективен в отношении штамма № 6 *A. calcoaceticus*.

Такие различия могут быть связаны с тем, что нефтеокисляющие микроорганизмы при биодegradации нефти образуют различные АФК, с разной локализацией липофильных и гидрофильных АО в клетке, гидрофобной и водной фазах культуральной среды, а также различием в степени активации биосинтеза окислительно-восстановительных ферментов АО.

Ионол и ацетат α -токоферола, являясь жирорастворимыми АО, локализуются, прежде всего, в мембранах клеток и в нефтяных мицеллах при образовании эмульсии

Ключевые слова: нефтеокисляющие микроорганизмы, свободнорадикальное окисление, антиоксиданты, биотрансформация, нефть

нефти в воде в процессе инкубирования. Эти АО эффективно перехватывают радикалы жирных кислот и образующиеся при свободнорадикальном окислении нефти радикалы углеводородов, смол и асфальтенов, супероксид-анион (ионол), гидроксильный радикал и синглетный кислород.

Маннитол и аскорбиновая кислота, напротив, локализуются в водной фазе, и преимущественно способны перехватывать гидрофильные радикалы. Кроме того, эти вещества могут проявлять и прооксидантные свойства — при взаимодействии аскорбиновой кислоты с пероксидом водорода в присутствии Fe и Cu образуются гидроксильные радикалы. Диапазон активности этих веществ колеблется гораздо сильнее — от полного ингибирования биодеструкции углеводородной фракции и нефти в целом (*A. xylosoxidans*, штамм № 5) до полуторакратной стимуляции дегradации углеводородов и нефти в целом (штамм № 6 *A. calcoaceticus* в присутствии маннитола).

При этом необходимо отметить двойственное поведение АО в отношении ингибирования биодegradации смол и асфальтенов. В большинстве случаев у штаммов активных нефтеокисляющих микроорганизмов видов *A. xylosoxidans* и *A. calcoaceticus* АО подавляют утилизацию смол (иногда сильно — *A. xylosoxidans*, штамм № 5; иногда крайне незначительно — как маннитол у *A. calcoaceticus*, штамм № 6), но при этом стимулируют биодegradацию асфальтенов. Напротив, у штамма *B. subtilis* присутствие АО (кроме аскорбиновой кислоты) вызывает полное прекращение дегradации асфальтенов, стимулируя при этом утилизацию смол более чем в два раза.

Такое, кажущееся противоречивым, действие АО можно объяснить многоплановостью и, зачастую, неоднозначностью их действия на живую клетку в течение времени. Первая (и рассматриваемая в большинстве работ) реакция живой системы, которая проявляется сразу же после введения АО — снижение уровня свободнорадикальных процессов за счет непосредственного взаимодействия АО и АФК. Но с течением времени наблюдаемая картина сильно изменяется, т.к. дополнительное введение АО в клетку может снижать синтез эндогенных АО с одной стороны, и стимулировать синтез ферментов, в результате деятельности которых генерируются АФК, с другой.

Необходимо отметить также разный характер взаимодействия микроорганизмов

Штамм, №	Образец	Смолы			Асфальтены			Σ нефтяных компонентов	
		средняя концентрация, мг/мл	изменение концентрации относительно контроля, %	средняя концентрация, мг/мл	изменение концентрации относительно контроля, %	средняя концентрация, мг/мл	изменение концентрации относительно контроля, %		
контроль	(исходная проба)	11,23±0,16	-	1,75±0,07	-	0,39±0,04	-	13,35±0,19	-
	без АО	9,58±0,31	-14,7	1,11±0,03	-36,9	0,35±0,01	-8,6	11,04±0,33	-17,3
	+ аскорбиновая кислота	10,86±0,45	-3,2	1,44±0,08	-17,9	0,31±0,01	-19,0	12,61±0,51	-5,5
	+ α-токоферола ацетат	10,50±0,47	-6,5	1,43±0,02	-18,6	0,27±0,02	-29,3	12,20±0,45	-8,6
<i>A. xylosoxidans</i> ВКПМ В-10344	+ ионол	10,86±0,18	-3,3	1,32±0,02	-24,7	0,27±0,02	-29,3	12,45±0,20	-6,7
	без АО	9,64±0,27	-14,1	1,13±0,03	-35,7	0,36±0,01	-6,9	11,12±0,30	-16,7
	+ аскорбиновая кислота	11,31±0,42	+0,8	1,62±0,02	-7,6	0,32±0,04	-17,2	13,25±0,37	-0,8
	+ маннитол	11,27±0,47	+0,5	1,63±0,12	-7,2	0,30±0,02	-22,4	13,20±0,60	-1,0
<i>A. xylosoxidans</i> № 5	+ α-токоферола ацетат	11,25±0,13	+0,2	1,64±0,07	-6,5	0,28±0,05	-27,5	13,17±0,09	-1,3
	+ ионол	11,07±0,43	-1,4	1,61±0,02	-7,2	0,29±0,02	-24,1	12,98±0,43	-2,6
	без АО	10,15±0,74	-9,6	1,14±0,02	-35,0	0,51±0,11	+32,8	11,81±0,86	-11,5
	+ аскорбиновая кислота	9,99±0,14	-10,9	1,26±0,02	-28,1	0,33±0,02	-15,5	11,58±0,14	-13,2
<i>A. calcoaceticus</i> № 6	+ маннитол	9,49±0,19	-15,4	1,2±0,06	-31,6	0,28±0,02	-27,5	10,98±0,22	-17,8
	+ α-токоферола ацетат	9,7±0,24	-13,5	1,41±0,08	-19,4	0,33±0,02	-15,5	11,44±0,27	-14,3
	+ ионол	10,83±0,47	-3,5	1,41±0,05	-19,4	0,33±0,04	-15,5	12,57±0,48	-5,8
	без АО	9,35±0,24	-16,7	1,45±0,22	-17,1	0,33±0,01	-15,5	11,13±0,32	-16,6
<i>A. calcoaceticus</i> ВКПМ В-10353	+ аскорбиновая кислота	10,25±0,14	-8,7	1,47±0,10	-15,9	0,32±0,02	-17,2	12,05±0,15	-9,7
	+ маннитол	10,05±0,32	-10,5	1,48±0,01	-15,5	0,32±0,01	-17,2	11,85±0,32	-11,2
	+ α-токоферола ацетат	10,33±0,24	-8,0	1,57±0,08	-14,1	0,29±0,03	-24,1	12,19±0,28	-8,8
	+ ионол	11,29±0,28	+0,6	1,61±0,05	-8,0	0,31±0,03	-18,9	13,22±0,28	-0,9
<i>B. subtilis</i> ВКПМ В-1895	без АО	9,79±0,19	-12,8	1,50±0,04	-14,4	0,36±0,01	-6,9	11,65±0,23	-12,7
	+ аскорбиновая кислота	9,57±0,73	-14,9	1,13±0,06	-35,4	0,37±0,03	-4,6	11,07±0,80	-13
	+ маннитол	9,95±0,20	-11,4	1,05±0,07	-39,1	0,39±0,02	0	11,39±0,27	-14,7
	+ α-токоферола ацетат	10,47±0,15	-7,0	1,16±0,01	-33,9	0,40±0,01	+2,5	12,03±0,14	-9,9
+ ионол	10,41±0,27	-7,3	1,12±0,02	-36,1	0,40±0,01	+2,5	11,92±0,29	-10,7	

различных таксонов с данными веществами. Так, штаммы *A. xylosoxidans* более чувствительны к действию АО, т.к. все протестированные соединения в той или иной степени предотвращают окисление нефти.

Для *B. subtilis*, как было отмечено выше, максимальный эффект подавления составил 43 % при ингибировании утилизации нефти ионолом и полное блокирование тремя из четырех исследованных АО биодеградаций асфальтенов.

Заключение

Ингибирование биодеградаций различных компонентов нефти исследованными штаммами *A. xylosoxidans*, *A. calcoaceticus* и *B. subtilis* при помощи различных АО, таких как аскорбиновая кислота, маннитол, ацетат α -токоферола и ионол, показало, что исследованные штаммы достаточно широко используют АФК в процессе биодеградаций нефти, т.к. все протестированные АО в той или иной степени предотвращают окисление углеводов, смол и асфальтенов. Учитывая эффективность ионола в качестве ингибитора окисления углеводов и его специфичность по отношению к радикалам, можно предположить участие в этом процессе гидроксильного радикала и супероксид-анион радикала.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации.

Литература

1. Smith M.R. The biodegradation of aromatic hydrocarbons by bacteria // *Biodegradation*. 1990. V. 1. № 2–3. P. 191–206.
2. Watkinson R.J. Physiology of aliphatic hydrocarbon-degrading microorganisms / Watkinson R.J., Morgan P. // *Biodegradation*. 1990. V. 1. № 2–3. P. 79–92.
3. Juhasz A.L. Bioremediation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo [a] pyrene / Juhasz A.L., Naidu R. // *Int. Biodet. Biodeg.* 2000. V. 45. № 1–2. P. 57–88.
4. Lovely D.R. Anaerobic benzene degradation // *Biodegradation*. 2000. V. 11. № 2–3. P. 107–116.
5. Spormann A.M. Metabolism of alkylbenzenes, alkanes, and other hydrocarbons in anaerobic bacteria / Spormann A.M., Widdel F. // *Biodegradation*. 2000. V. 11. № 2–3. P. 85–105.
6. Phelps C.D. Biodegradation of BTEX under anaerobic conditions: a review / Phelps C.D., Young L.Y. // *Adv. Agron.* 2001. № 70. P. 329–357.
7. Widdel F. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons / Widdel F., Rabus R. // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001. V. 12. № 3. P. 259–276.
8. Сазыкин И.С. Разложение нефти микроорганизмами. Экологические аспекты / Сазыкин И.С., Сазыкина М.А., Чистяков В.А. // *Изв. ВУЗов. Северо-Кавказский регион. Сер. Естественные науки*. 2009. № 6. С. 88–93.
9. Сазыкин И.С. Ферментативные и неферментативные механизмы деградации углеводов нефти микроорганизмами / Сазыкин И.С., Чистяков В.А., Сазыкина М.А. // *Труды Кубанского государственного аграрного университета*. 2009. № 6. С. 50–57.
10. Messner K.R. The identification of primary sites of superoxide and hydrogen peroxide formation in the aerobic respiratory chain and sulfite reductase complex of *Escherichia coli*. / Messner K.R., Imlay J.A. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 15. P. 10119–10128.
11. Bell S.G. Cytochrome P450 enzymes from the metabolically diverse bacterium *Rhodospseudomonas palustris*. / Bell S.G., Hoskins N., Xu F., Caprotti D., Rao Z., Wong L.L. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. V. 342. № 1. P. 191–196.
12. Bell S.G. P450 enzymes from the bacterium *Novosphingobium aromaticivorans*. / Bell S.G., Wong L.L. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. V. 360. № 3. P. 666–672.
13. Wang X.B. Degradation of petroleum hydrocarbons (C6–C40) and crude oil by a novel *Dietzia* strain / Wang X.B., Chi C.Q., Nie Y., Tang Y.Q., Tan Y., Wu G., Wu X.L. // *Bioresour. Technol.* 2011. V. 102. № 17. P. 7755–7761.
14. Wu R.R. The effects of nutrient amendment on biodegradation and cytochrome P450 activity of an n-alkane degrading strain of *Burkholderia* sp. GS3C / Wu R.R., Dang Z., Yi X.Y., Yang C., Lu G.N., Guo C.L., Liu C.Q. // *J. Hazard. Mater.* 2011. V. 186. № 2–3. P. 978–983.
15. Метелица Д.И. Активация кислорода ферментными системами М.: Наука, 1982. 255 с.
16. Зенков Н.К. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах / Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. // *Успехи соврем. биол.* 1993. Т. 113. Вып. 3. С. 286–296.
17. Mai-Prochnow A. Hydrogen peroxide linked to lysine oxidase activity facilitates biofilm differentiation and dispersal in several gram-negative bacteria / Mai-Prochnow A., Lucas-Elio P., Egan S., Thomas T., Webb J.S., Sanchez-Amat A., Kjelleberg S. // *J. Bacteriol.* 2008. V. 190. № 15. P. 5493–5501.

18. Greenberg J. T. Positive control of a global antioxidant defense regulon activated by superoxide-generating agents in *Escherichia coli* / Greenberg J. T., Monach P., Chou J. H., Josephy P. D., Dimple B. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. № 16. P. 6181–6185.
19. Tsaneva I. R. *soxR*, a locus governing a superoxide response regulon in *Escherichia coli* K-12 / Tsaneva I. R. Tsaneva I. R. Weiss B. // J. Bacteriol. 1990. V. 172. № 8. P. 4197–4205.
20. Porasuphatanaa S. The generation of free radicals by nitric oxide synthase / Porasuphatanaa S., Tsai P., Rosen G. M. // Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol Pharmacol. 2003. V. 134. № 3. P. 281–289.
21. Wang R. — F. Cloning, expression and characterization of the *katG* gene, encoding catalase–peroxidase, from the polycyclic aromatic hydrocarbon–degrading bacterium *Mycobacterium* sp. strain PYR-1 / Wang R. — F., Wennerstrom D., Cao W. — W., Khan A. A., Cerniglia C. E. // Appl. Environ. Microbiol. 2000. V. 66. № 10. P. 4300–4304.
22. Bekerman R. The *AlnB* protein of the bioemulsan *alasan* is a peroxiredoxin / Bekerman R., Segal G., Ron E. Z., Rosenberg E. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005. V. 66. № 5. P. 536–541.
23. Godociková J. Production of catalases by *Comamonas* spp. and resistance to oxidative stress / Godociková J., Boháčová V., Zámocký M., Polek B. // Folia Microbiol (Praha). 2005. V. 50. № 2. P. 113–118.
24. Kato T. Alkane inducible proteins in *Geobacillus thermoleovorans* B23 / Kato T., Miyayama A., Kanaya S., Morikawa M. // BMC Microbiol. 2009; V. 9. article 60. Электронный ресурс: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/60>.
25. Hastrup A. C. S. Non-enzymatic depolymerization of cotton cellulose by fungal mimicking metabolites / Hastrup A. C. S., Howell C., Jensen B., Green F. // Int. Biodet. Biodeg. 2011. V. 65. № 3. P. 553–559.
26. Родина А. Г. Методы водной микробиологии. М.: Наука, 1965. 363 с.
27. Павленко Л. Ф. Смолистые компоненты нефти в природных водах / Павленко Л. Ф., Семенов А. Д., Страдомская А. Г., Лопатина Л. Н. // Гидрохим. мат-лы, 1978. Т. 74. С. 18–23.
28. Кленкин А. А. Некоторые методические особенности определения уровня нефтяного загрязнения водных экосистем / Кленкин А. А., Павленко Л. Ф., Темердашев З. А. // Заводская лаборатория. 2007. Т. 73. № 2. С. 31–35.
29. ФР.1.31.2005.01511 МВИ массовой концентрации нефтепродуктов в пробах природных (пресных и морских) и очищенных сточных и питьевых вод.
30. ФР.1.31.2005.01512 МВИ массовой доли нефтепродуктов в пробах почв и донных отложений пресноводных и морских водоёмах.



I. S. Sazykin, M. A. Sazykina

ANTIOXIDANT INFLUENCE ON MICROBIAL OIL TRANSFORMATION

Influence of four antioxidants (ascorbic acid, mannitol, alpha-tocopherol acetate and ionol) on oil transformation by five strain of marine oil degrading microbial species *Achromobacter xylosoxidans*, *Acinetobacter calcoaceticus* and *Bacillus subtilis* is investigated. It is found that antioxidants at 1 mM concentration differently inhibit microbial degrading of oil or its individual fractions (hydrocarbons, resins and asphaltens).

Key words: oil degrading microorganisms, free radical oxidation, antioxidants, biotransformation, oil