

ВЛИЯНИЕ β -ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ НА ДЕГИДРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ АКТИВНОГО ИЛА

© 2010 И.Ф. Шаталаев, З.Е. Мащенко, А.В. Воронин, М.А. Шефер-Серебрякова

Самарский государственный медицинский университет

В работе представлены сведения о влиянии β -лактамных антибиотиков – бензилпенициллина натриевой соли и ампициллина на дегидрогеназную активность ила в анаэробно-аэробных условиях.

Ключевые слова: *антибиотики, бензилпенициллина натриевая соль, ампициллин, дегидрогеназная активность ила, сточные воды, корреляционный анализ*

В настоящее время одной из актуальных экологических проблем является присутствие антибиотиков и резистентных к ним бактерий в сточных водах фармацевтических и сельскохозяйственных производств. В большинстве случаев нативные антибиотики и продукты их превращения не обладают способностью к биологической трансформации, а также негативно влияют на микрофлору очистных сооружений и окружающей среды. Необходимо отметить отсутствие объективных и доступных для лабораторных служб рутинных методов анализа антибиотиков в объектах окружающей среды, в том числе и сточных водах. Переход к более адекватному и надежному контролю качества сточных вод, поступающих в канализацию, на биологическую очистку и сбрасываемых в водоем без очистки возможен при условии обязательного применения, наряду с аналитическими методами, методов биотестирования токсичности и оценки качества сточных вод по экосистемным признакам [1]. Использование в контроле токсичности интегральных показателей загрязнения дает возможность уточнить степень влияния сточных вод различных предприятий на экосистемы сооружений биологической очистки и на природные водные объекты [2, 5, 6].

Достоверно установлено, что дегидрогеназная активность ила является надежным интегральным показателем состояния сточных вод, поступающих в системы канализации и на биологическую очистку. Было определено, что

снижение исходной активности дегидрогеназ ила более чем на 20% приводит к превышению показателей биологического потребления кислорода для очищенных сточных вод, т.е. токсичной для процессов биологической очистки является такая концентрация токсикантов, при которой дегидрогеназная активность ила снижается на 20% [3, 4]. В рамках программы перехода на экологическое нормирование качества окружающей среды активное развитие получило направление биомониторинга, предполагающее использование в качестве тест-объекта активного ила, характер дегидрогеназной активности, которого является интегральным показателем функционирования его как экосистемы и может применяться для оценки токсичности различных объектов [7].

Цель работы – исследование влияния веществ группы β -лактамных антибиотиков – ампициллина и бензилпенициллина натриевой соли на дегидрогеназную активность ила в условиях модельного эксперимента.

Материал и методы исследования. В качестве тест-объекта использовали активный ил регенератора первой секции аэраторов городских очистных сооружений МП «Самароводоканал». Инкубацию смеси иловой суспензии с исследуемыми антибиотиками осуществляли в течение 4 часов при температуре 20⁰С в аэробно-анаэробных условиях; отбор проб из инкубационной среды – по 4 мл иловой суспензии, проводили через каждый час. Бензилпенициллина натриевую соль и ампициллин добавляли в инкубационную среду в количестве 10-70 мг/г биомассы активного ила. Определение дегидрогеназной активности осуществляли по методике, основанной на восстановлении индикатора 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида с последующим фотометрическим анализом полученных растворов. Относительную дегидрогеназную активность в пробах рассчитывают как процентное отношение оптической плотности в опытной пробе, содержащей

Шаталаев Иван Федорович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой химии фармацевтического факультета

Мащенко Зинаида Евгеньевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации. E-mail: tzinaida@yandex.ru

Воронин Александр Васильевич, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: dimmi2000@mail.ru

Шефер-Серебрякова Мария Александровна, ассистент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail – SMA-Mariya-79@mail.ru

исследуемое вещество в известной концентрации, к оптической плотности в контрольной («холостой») пробе [3]. Для статистической обработки результатов использовали модули корреляционного анализа программы Statistica 6.0 (Statsoft Inc., USA).

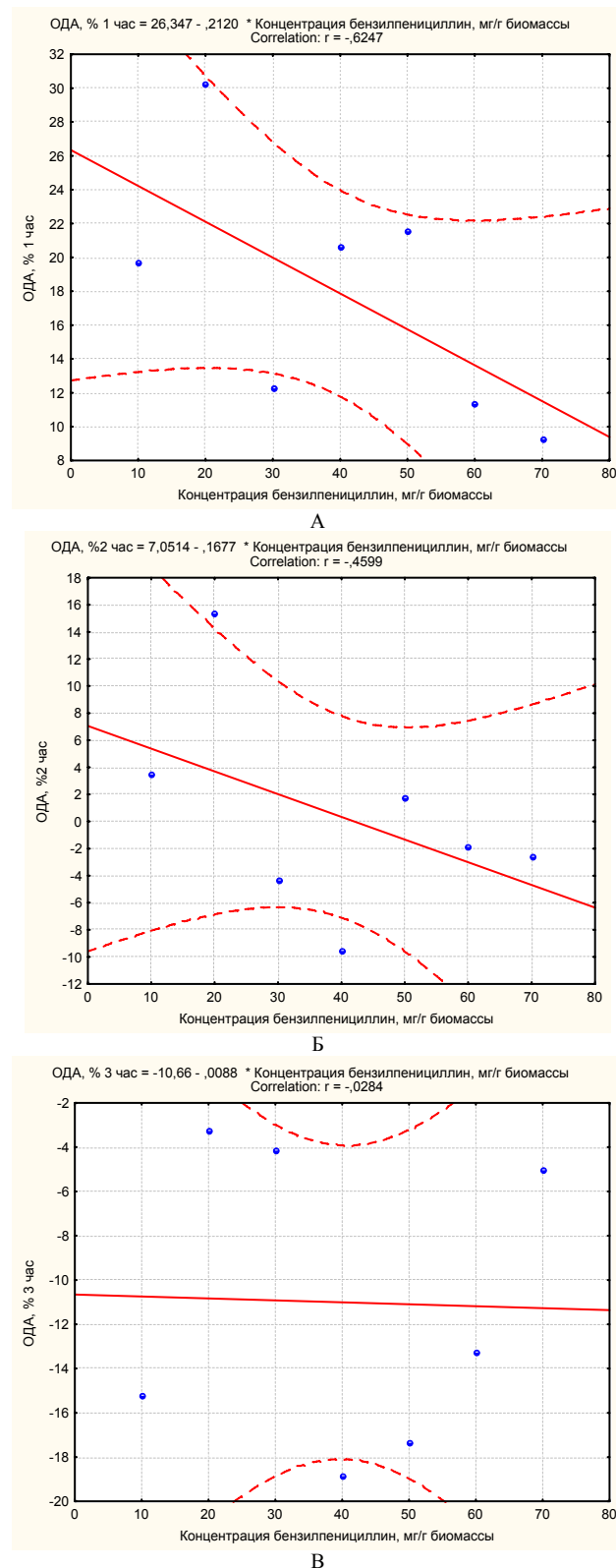
Результаты и их обсуждение. Динамика относительной дегидрогеназной активности (ОДА) ила при действии бензилпенициллина натриевой соли в диапазоне концентраций 10-70 мг/г биомассы представлена в табл. 1. В течение первого часа инкубации отмечали увеличение уровня ОДА ила; максимальное увеличение показателя до 30,21% происходило в инкубационной среде с содержанием бензилпенициллина натриевой соли 20 мг/г биомассы, для образцов с содержанием антибиотика 10, 40 и 50 мг/г биомассы дегидрогеназная активность увеличивалась до уровня около 20%. К третьему часу инкубации во всем диапазоне исследуемых концентраций отмечалось устойчивое снижение дегидрогеназной активности, связанное с ингибированием основных оксидоредуктаз цикла трикарбоновых кислот; снижение исходной активности дегидрогеназ ила более чем на 17% наблюдали в образцах с содержанием бензилпенициллина натриевой соли 40 и 50 мг/г биомассы. В пробах с содержанием бензилпенициллина натриевой соли 10-30 мг/г биомассы к четвертому часу инкубации происходило повторное увеличение дегидрогеназной активности, не превышающее уровня 12%. Исследуемый антибиотик в диапазоне концентраций 40-70 мг/г биомассы в течение четвертого часа инкубации снижал активность дегидрогеназ ила до уровня 20%, т.е. в эксперименте наблюдалась потенциальная токсичность бензилпенициллина для процессов биологической очистки.

Таблица 1. Изменение ОДА ила при действии бензилпенициллина натриевой соли

Концентрация антибиотика, мг/г биомассы	ОДА, %			
	время инкубации, час			
	1	2	3	4
10	19,67	3,57	-15,25	12,71
20	30,21	15,39	-3,26	2,72
30	12,28	-4,32	-4,16	11,22
40	20,63	-9,56	-18,81	-26,19
50	21,54	1,80	-17,30	-24,88
60	11,41	-1,85	-13,26	-20,14
70	9,33	-2,63	-5,02	-14,29

Был проведен корреляционный анализ между величинами: содержание бензилпени-

циллина натриевой соли (мг/г биомассы) в инкубационной среде и уровень ОДА ила в различные интервалы инкубации; результаты проведенного анализа показывают, что на третий час инкубации практически отсутствует зависимость между рассматриваемыми величинами, о чем свидетельствует значение коэффициента корреляции Пирсона -0,0284 (рис. 1).



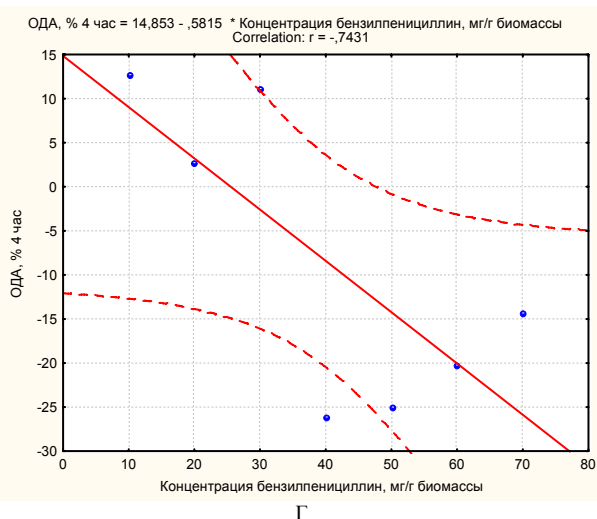


Рис. 1. Графики зависимости относительной дегидрогеназной активности ила (%) от концентрации бензилпенициллина натриевой соли (мг/г биомассы): 1 (А), 2 (Б), 3 (В) и 4 часа инкубации (Г)

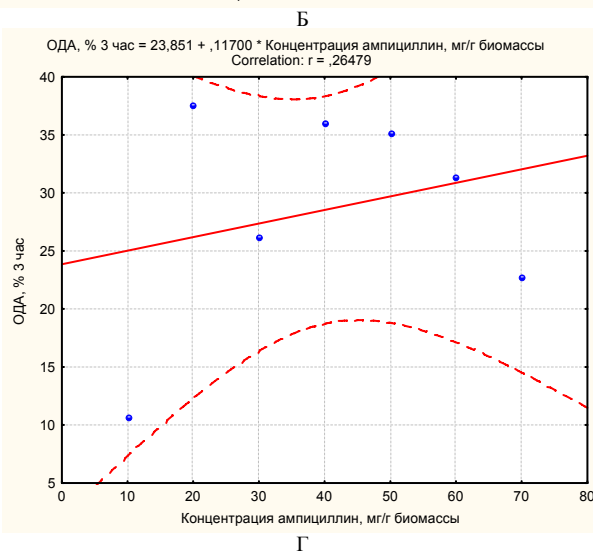
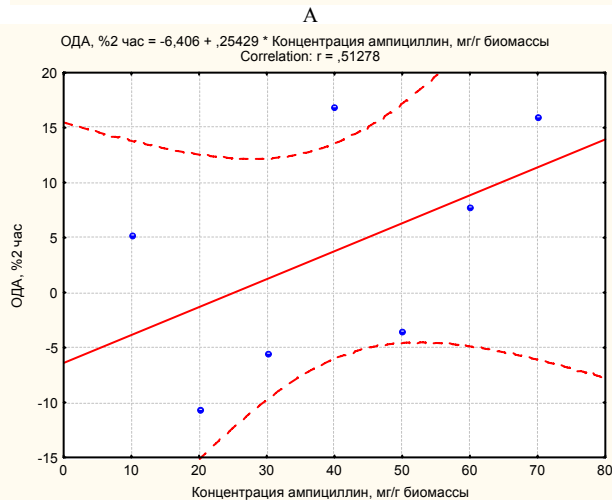
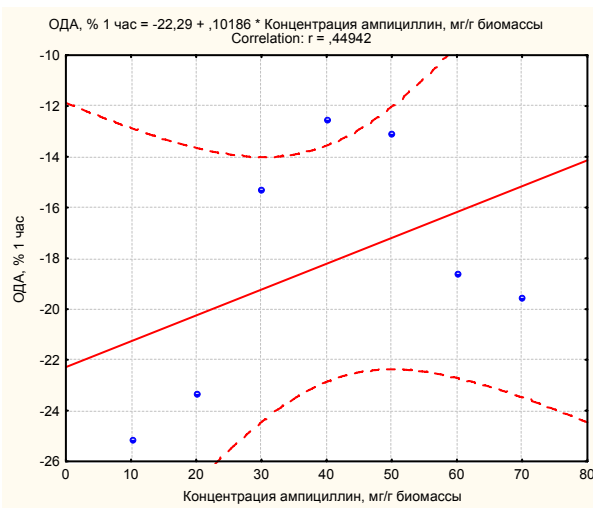
В первый и четвертый час инкубации между концентрацией антибиотика и уровнем дегидрогеназной активности наблюдалась определенная корреляция – величины коэффициентов корреляции составили $-0,625$ и $-0,743$ соответственно; очевидно, что зависимость между рассматриваемыми параметрами может носить линейный характер. В таблице 2 приведена динамика ОДА ила при действии ампициллина в диапазоне концентраций 10-70 мг/г биомассы.

Таблица 2. Изменение ОДА ила при действии ампициллина

Концентрация антибиотика, мг/г биомассы	ОДА, %			
	время инкубации, час			
	1	2	3	4
10	-25,16	5,25	10,69	-2,70
20	-23,33	-10,63	37,56	2,08
30	-15,28	-5,56	26,20	-1,11
40	-12,50	16,96	36,0	1,80
50	-13,09	-3,47	35,10	-5,88
60	-18,61	7,83	31,46	-4,90
70	-19,53	15,98	22,71	-11,40

В течение первого часа инкубации отмечали снижение уровня ОДА ила во всем диапазоне исследуемых концентраций; снижение показателя более чем на 20% происходило в инкубационной среде с содержанием ампициллина 10-20 мг/г биомассы, для образцов с содержанием антибиотика 60-70 мг/г биомассы дегидрогеназная активность снижалась до

18-19%. В течение последующих двух часов наблюдали увеличение ОДА, связанное с активацией дегидрогеназ. К четвертому часу инкубации исследуемый антибиотик в диапазоне концентраций 10-70 мг/г биомассы приводил к повторному снижению активности дегидрогеназы ила. Результаты корреляционного анализа «содержание ампициллина (мг/г биомассы) в инкубационной среде – уровень ОДА ила» в различные интервалы инкубации представлены на рис. 2.



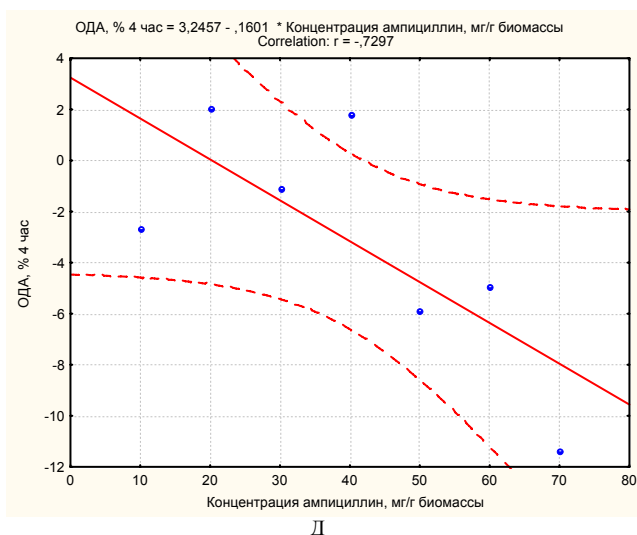


Рис. 2. Графики зависимости относительной дегидрогеназной активности ила (%) от концентрации ампициллина (мг/г биомассы): 1 (А), 2 (Б), 3 (В) и 4 часа инкубации (Г).

Необходимо отметить различный характер корреляции для ампициллина и бензилпенициллина натриевой соли «содержание антибиотика в инкубационной среде – уровень ОДА ила» в первые 2 часа инкубации: для ампициллина с ростом содержания наблюдается снижение уровня ингибирования дегидрогеназ; для бензилпенициллина – обратная зависимость. Для четвертого часа инкубации для ампициллина и бензилпенициллина наблюдаются близкие значения коэффициента корреляции (около -0,7), связанные с увеличением ингибирования дегидрогеназ ила с ростом концентрации антибиотика.

Выводы: в результате проведенных исследований с применением модельного эксперимента и статистических методов установлены ряд закономерностей влияния β -лактамных антибиотиков – ампициллина и бензилпени-

циллина натриевой соли на дегидрогеназную активность ила. В перспективе на основании интегральной информации о влиянии различных токсикантов, в том числе антибиотиков, на дегидрогеназную активность ила возможно управление функционированием экосистемы активного ила, т.е. работой очистных сооружений, что актуально для учреждений службы биологического мониторинга окружающей среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Акимов, В.И.* Оценка токсичности воды поверхностных источников / *В.И. Акимов, В.В. Артамонов, Т.Ф. Козловская* // Научные труды Кременчугского государственного политехнического университета «Проблемы создания новых машин и технологий». Выпуск 2/2000 (9). С. 544-547.
2. *Архипчик, В.В.* Применение комплексного подхода в биотестировании природных вод / *В.В. Архипчик, М.В. Малиновская* // Химия и технология воды. 2000. Т. 22, №4. С. 428-443.
3. Биотестирование токсичности сточных вод по дегидрогеназной активности ила. Методические рекомендации // Самара, СамГМУ, 1998. 6 с.
4. *Гюнтер, Л.И.* К предупреждению загрязнения водоемов сточными водами нефтехимических производств / *Л.И. Гюнтер, И.Ф. Шаталаев* // Водные ресурсы. 1986. №3. С. 33-37.
5. Приказ Министерства охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ №533 от 27 декабря 1995 г. О проведении эксперимента по внедрению методов биотестирования при оценке качества возвратных вод и взимания платы с учетом их токсичности.
6. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов / М.: РЭФИА, НИА-Природа, №2002.
7. Справочник по гидрохимии // Л.: Гидрометиздат, 1989. 391 с.

INFLUENCE OF β -LACTAMIC ANTIBIOTICS ON DEHYDROGENASE ACTIVITY OF THE ACTIVE SLUDGE

© 2010 I.F. Shatalaev, Z.E. Mashchenko, A.V. Voronin, M.A. Shefer-Serebryakova
Samara State Medical University

In work data on influence of β -lactamic antibiotics – benzylpenicillin sodium salt and ampicillin on dehydrogenase activity of sludge in unaerobic-aerobic conditions are presented.

Key words: *antibiotics, benzylpenicillin sodium salt, ampicillin, dehydrogenase activity of sludge, sewage, correlation analysis*

Ivan Shatalaev, Doctor of Biology, Professor, Head of the Chemistry Department of Pharmaceutical Faculty

Zinaida Mashchenko, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Pharmacy Department. E-mail: mzinaida@yandex.ru

Alexander Voronin, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Chemistry Department of Pharmaceutical Faculty. E-mail: dimmu2000@mail.ru

Mariya Shefer-Serebryakova, Assistant at the Chemistry Department of Pharmaceutical Faculty. E-mail – SMA-Mariya-79@mail.ru