

ВЛИЯНИЕ СПИРТОВ НА ДЕГИДРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРОЦЕНОЗА АКТИВНОГО ИЛА

© 2011 Н.В. Расцветова, М.Н. Шаталаева, А.В. Воронин, И.В. Медриш

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 30.09.2011

Исследовали влияние различных спиртов на дегидрогеназную активность микроценоза ила. Были установлены концентрации, вызывающие субстратное ингибирование дегидрогеназ ила.

Ключевые слова: *активный ил, дегидрогеназная активность, спирты*

Антропогенная деятельность стала важным фактором изменения водного баланса и загрязнения гидросферы. В результате интенсивного хозяйственного водопользования загрязнению подвержены практически все водоемы планеты. Наряду с проблемой дефицита пресной воды существует и проблема качества потребляемой воды. По оценкам ВОЗ 80% всех заболеваний – результат употребления грязной воды. Более 500 млн. человек (т.е. каждый десятый житель планеты) страдает от потребления некачественной воды и продуктов питания. Свыше 20% отбираемых в мире проб питьевой воды не отвечает гигиеническим требованиям по санитарно-химическим и около 12% по микробиологическим показателям [1, 2]. Попытки оценить токсичность компонентов сточных вод и функциональное состояние активного ила предпринимались неоднократно. Принципиальное отличие имеет группа методов, предназначенных для определения функционального состояния микроорганизмов активного ила, основанных на определении ферментативной активности. Центральное место среди методов оценки функционального состояния активного ила занимает метод определения активности дегидрогеназ.

Цель исследования: изучение влияния различных спиртов на активность дегидрогеназ микроценоза активного ила.

Расцветова Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: rastsvetova_nv@list.ru
Шаталаева Марина Николаевна, старший преподаватель кафедры медицинской и биологической физики
Воронин Александр Васильевич, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: dimmi2000@mail.ru
Медриш Инна Владимировна, кандидат химических наук, ассистент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: medrish@mail.ru

Методика исследования. В качестве объекта исследования был выбран активный ил регенератора первой секции аэракторов городских очистных сооружений ПО «Самара-водоканал». Определение общей дегидрогеназной активности проводили методом [2]. Относительную дегидрогеназную активность рассчитывали как процентное отношение оптической плотности опытной пробы к оптической плотности контрольной пробы. При статистической обработке полученных экспериментальных данных был использован метод проверки статистической гипотезы о нормальном распределении генеральных совокупностей по критерию согласия Пирсона при уровне значимости 0,05, принятом в медицине и биологии. Гипотеза была принята для всех совокупностей.

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе эксперимента было установлено, что добавление водных растворов спиртов различной концентрации (начиная с 0,01 мг спирта на 1 мл суспензии) к активному илу вызывает изменение общей дегидрогеназной активности. Подъем активности ферментов практически в 2 раза наблюдался в пробе, содержащей изопропанол (табл. 1). При добавлении пропанола, пентанола, аллилового спирта активность дегидрогеназ увеличивалась в среднем на 30%, а при внесении растворов этанола, бутанола, октанола или бензилового спирта – в среднем на 15-20%. В остальных случаях отмечалась тенденция к росту активности ферментов. При добавлении спиртов из расчета 0,02 мг на 1 мл суспензии ила вновь обращало внимание резкое повышение функциональных возможностей дегидрогеназ (+131,2%; $p < 0,05$), вызываемое изопропанолом. При добавлении аллилового спирта в указанной концентрации активация составляла 68,8% ($p < 0,05$). Практически на 40% повышалась активность энзимов при контакте с пропанолом и пентанолом. Активизация ферментов ила наблюдалась при добавлении этанола (+19,2%; $p < 0,05$), бутанола

(+22,9%; $p < 0,05$), бензилового спирта (+22,8%; $p < 0,05$), октанола (+26,7%; $p < 0,05$). Сохранялась тенденция к увеличению работоспособности дегидрогеназ при инкубации ила с метанолом (+12,8%; $p < 0,05$), изобутанолом (+14,4%; $p < 0,05$), изопентанолом (+13,2%; $p < 0,05$), этиленгликолем (+11,4%; $p < 0,05$), глицерином (+15,2%; $p < 0,05$), циклогексанолом (+13,9%; $p < 0,05$). Обращал внимание значительный рост

активности дегидрогеназ при добавлении к илу этанола (+78,5%; $p < 0,05$), пропанола (+110,2%; $p < 0,05$), изопропанола (+172,7%; $p < 0,05$), пентанола (+50,5%; $p < 0,05$) в количестве 0,1 мг спирта на 1 мл суспензии (табл.1). Для бутанола, изобутанола, изопентанола и октанола динамика составляла соответственно +34,1%; +35,6%; +32,4%; +38,8% ($p < 0,05$).

Таблица 1. Относительная дегидрогеназная активность активного ила при действии спиртов

Название спирта	Относительная дегидрогеназная активность ила, %						
	количество спирта, мг/г ила						
	0,01	0,02	0,1	0,2	0,5	1,0	2,0
метанол	+11,0	+12,8	+15,1	+15,1	+18,6	+19,8	+19,8
этанол	+15,5	+19,2	+78,5	+94,1	+113,2	+180,4	+180,4
пропанол	+33,0	+36,9	+110,2	+128,6	+155,3	+185,9	+196,1
изопропанол	+89,7	+131,2	+172,7	+174,3	+173,1	+173,9	+174,3
бутанол	+18,8	+22,9	+34,1	+58,7	+57,8	+59,2	+56,5
изобутанол	+3,9	+14,4	+35,6	+58,4	+89,6	+108,4	+107,4
пентанол	+30,5	+38,1	+50,5	+52,9	+60,5	+50,0	+44,3
изопентанол	+3,7	+13,2	+32,4	+34,7	+42,0	+53,9	+34,7
октанол	+18,4	+26,7	+38,8	-16,0	-	-	-
аллиловый спирт	+31,2	+68,8	+164,9	+201,9	+139,6	+103,9	+18,8
этиленгликоль	+9,2	+11,4	+13,5	+20,5	+21,6	+19,5	+21,1
глицерин	+12,8	+15,2	+17,1	+16,5	+19,5	+15,2	+17,7
циклогексанол	+5,5	+13,9	+17,9	+23,9	+25,9	+24,9	+26,9
бензиловый спирт	+20,8	+22,8	+25,2	+31,2	+29,2	+10,4	0

После инкубации с метанолом было обнаружено повышение активности дегидрогеназ на 15,1% ($p < 0,05$). Воздействие на микроценоз ила двухатомных спиртов этиленгликоля и глицерина характеризовалось увеличением активности ферментов на 13,5% ($p < 0,05$) и на 17,1% ($p < 0,05$) соответственно, а ароматических спиртов – циклогексанола и бензилового спирта – соответственно на 17,9% ($p < 0,05$) и 25,2% ($p < 0,05$). Инкубация активного ила со спиртами в концентрации 0,2 мг на 1 мл суспензии позволила выявить противоположно направленные изменения общей дегидрогеназной активности (табл.1). Подъем дегидрогеназной активности относительно контрольной пробы был отмечен в суспензиях ила, содержащих бензиловый спирт, циклогексанол, этиленгликоль, глицерин. В пробе с добавлением октанола наблюдалось угнетение функций ферментов на 16,0% ($p < 0,05$). В остальных суспензиях было выявлено увеличение активности дегидрогеназ, особо выраженное в смеси с аллиловым спиртом (+201,9%; $p < 0,05$), изопропанолом (+174,3%; $p < 0,05$), этанолом (+94,1%; $p < 0,05$), пропанолом (+128,6%; $p < 0,05$), бутанолом (+58,7%; $p < 0,05$), изобутанолом (+58,4%; $p < 0,05$). Однако при сопоставлении полученных показателей для концентраций спиртов в суспензиях 0,1 мг/мл и 0,2 мг/мл, были отмечены следующие закономерности (табл. 1). В пробах с метанолом активность

дегидрогеназ увеличивалась абсолютно одинаково (+15,1%; $p < 0,05$). Практически на одну и ту же величину возрастала активность ферментов в суспензиях с изопропанолом (172,7% и 174,3%), пентанолом (50,5% и 52,9%), изопентанолом (32,4% и 34,7%), а в пробах, содержащих глицерин, отмечалась тенденция к угнетению энзимов (соответственно 17,1% и 16,5%).

Показатели общей дегидрогеназной активности, полученные после инкубации ила со спиртами в концентрации 0,5 мг/мл суспензии, позволили сделать вывод о росте функциональной способности ферментов опытных проб относительно контрольной (табл. 1). Это, прежде всего, относится к смесям содержащим этанол (+113,2%; $p < 0,05$), пропанол (+155,3%; $p < 0,05$) и изобутанол (+89,6%; $p < 0,05$). О тенденции к активации ферментов можно сказать про смеси, содержащие пентанол и изопентанол. В пробах, содержащих метанол, изопропанол, бутанол, этиленгликоль, глицерин, циклогексанол, бензиловый спирт в концентрации 0,5 мг/мл суспензии активность дегидрогеназ изменялась менее чем на 4% относительно показателя для концентрации 0,2 мг/мл суспензии.

Анализ полученных данных об активности дегидрогеназ ила после инкубации со спиртами в концентрации 1,0 мг/мл суспензии показал следующее (табл. 1). Значимое увеличение дегидрогеназной активности было отмечено для смесей

содержащих пропанол (+185,9%; $p < 0,05$), этанол (+180,4%; $p < 0,05$), изобутанол (+108,4%; $p < 0,05$), аллиловый спирт (+103,9%; $p < 0,05$). В меньшей степени этот подъем был характерен для смесей содержащих бутанол (59,2%; $p < 0,05$), изопентанол (+53,9%; $p < 0,05$), пентанол (+50,0%; $p < 0,05$), а также проб с циклогексанолом (+24,9%; $p < 0,05$), метанолом (+19,8%; $p < 0,05$), этиленгликолем (+19,5%; $p < 0,05$), глицерином (+15,2%; $p < 0,05$). Однако если сравнивать показатели относительной дегидрогеназной активности ферментов при инкубировании со спиртами в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/мл суспензии, то увеличение активности фермента при повышении концентрации спирта установлено для изобутанола (на 18,8%), пропанола (+30,6%) и этанола (+67,2%). Сопоставляя величины относительной дегидрогеназной активности при концентрациях 0,5 мг/мл и 1,0 мг/мл, можно отметить появление тенденции к снижению активности фермента в смесях, содержащих пентанол (-9,5%), бензиловый спирт (-18,8%), аллиловый спирт (-35,5%).

Проведенные исследования показали, что добавление водных спиртовых растворов к активному илу в концентрации 2,0 мг/мл суспензии характеризуется положительной величиной относительной дегидрогеназной активности за исключением смеси, содержащей бензиловый спирт, где активность дегидрогеназ такая же, как в контрольной пробе (табл. 1). Сравнивая показатели для концентраций спирта 1,0 мг/мл и 2,0 мг/мл суспензии ила, мы можем отметить что они, либо абсолютно одинаковы (в пробах с метанолом и с этанолом), либо свидетельствуют о начавшемся угнетении функционирования ферментов (для смесей, содержащих бутанол, изобутанол, пентанол, изопентанол или аллиловый спирт).

Таким образом, была установлена зависимость между химическим строением ряда спиртов и их токсичностью для дегидрогеназ микро-

ценоза активного ила. В частности, низшие нормальные спирты, кроме метанола, обладают меньшей токсичностью. Наибольшим сродством к ферментам обладают этанол, пропанол, изопропанол и изобутанол. Увеличение числа атомов углерода и гидроксильных групп, степени разветвления алкильного радикала приводит к повышению токсичности спирта для дегидрогеназ водных микроорганизмов. Бензиловый спирт, имеющий ароматическую структуру, более токсичен, чем циклогексанол, обладающий циклическим строением.

Выводы:

1. С увеличением числа атомов углерода в радикале алифатических спиртов и степени его разветвления отмечается снижение степени сродства субстрата к ферменту.

2. С повышением концентрации алифатических спиртов до определенного значения (концентрация насыщения) скорость ферментативной реакции возрастает. Дальнейшее повышение содержания спиртов приводит к субстратному ингибированию дегидрогеназ микробиоценоза активного ила.

3. Установленные концентрация насыщения могут быть использованы для составления нормативной документации, регламентирующей уровень содержания спиртов в загрязненных водах, поступающих на очистные сооружения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Фелленберг, Г. Загрязнение природной среды. Введение в экологическую химию: пер. с нем. / Г. Фелленберг. – М.: Мир, 1997. 232 с.
2. Экология, здоровье и охрана окружающей среды в России: Справ. / Под ред. В.Ф. Протасова. – М.: Финансы и статистика, 1999. 672 с.
3. Гюнтер, Л.И. Методика определения дегидрогеназной активности и окислительно-восстановительного потенциала при технологическом контроле за работой аэротенков / Л.И. Гюнтер, Н.М. Казаровец. – М.: ОНТИ АКХ им. К.Д. Памфилова, 1970. 16 с.

INFLUENCE OF SPIRITS ON DEHYDROGENASE ACTIVITY OF ACTIVE SILT MICROCENOSIS

© 2011 N.V. Rastsvetova, M.N. Shatalaeva, A.V. Voronin, I.V. Medrish

Samara State Medical University

Investigated the influence of various spirits on dehydrogenase activity of silt microcenosis. Concentration causing substrate inhibition of silt dehydrogenases have been established.

Key words: *active silt, dehydrogenase activity, spirits*

Nataliya Rastsvetova, Candidate of Biology, Associate Professor at the Chemistry Department of Pharmaceutical Faculty. E-mail: rastsvetova_nv@list.ru
Marina Shatalaeva, Senior Teacher at the Medical and Biological Physics Department
Alexander Voronin, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Chemistry Department of Pharmaceutical Faculty. E-mail: dimmu2000@mail.ru
Inna Medrish, Candidate of Chemistry, Assistant at the Chemistry Department of Pharmaceutical Faculty. E-mail: medrish@mail.ru