

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПИРТОВ НА ДЕГИДРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ АКТИВНОГО ИЛА

© 2011 Н.И. Шаталаев, Н.В. Расцветова, И.В. Медриш

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 18.05.2011

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

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

Загрязненные воды современных нефтехимических и фармацевтических производств представляют собой многокомпонентные системы, содержащие неорганические и органические соединения различных классов с большим удельным весом алифатических спиртов. Спирты в значительной степени отличаются друг от друга по физико-химическим свойствам, строению и способности к биологическому окислению. Эти вещества могут оказать токсическое действие как на микрофлору очистных сооружений, так и на микро- и макроорганизмы водоемов. К сожалению, в современной литературе данные о степени токсичности спиртов на микробиоценоз активного ила немногочисленны и противоречивы. [1,3]. В связи с этим настоящее исследование приобретает важное теоретическое значение и практический интерес.

**Цель исследования:** изучение влияния некоторых спиртов на активность дегидрогеназ микробиоценоза активного ила.

**Методика исследования.** В качестве объекта исследования был выбран активный ил регенератора первой секции аэраторов городских очистных сооружений МП «Самараводоканал». Определение общей дегидрогеназной активности проводили методом [2]. В центрифужные пробирки вносили по 4 мл тщательно перемешанной суспензии активного ила (активный ил и сточная жидкость аэротенка), добавляли 1 мл 0,15 М фосфатного буфера (рН = 7,4) и 0,1 мл 1% раствора ТТХ. Одну пробирку оставляли в качестве контрольной, а в остальные наливали по 1 мл растворов спиртов различной концентрации. Содержимое каждой пробирки тщательно перемешивали. Пробы инкубировали 30 минут в термостате при 37°C, а затем центрифугировали при

4000 оборотах в минуту в течение 3 минут. Надосадочную жидкость из каждой пробирки сливали и к осадку добавляли по 5 мл этанола. Содержимое каждой пробирки перемешивали и, закрыв предварительно пробками, энергично встряхивали для экстракции образовавшегося формазана 3 минуты. После этого пробирки центрифугировали 3 минуты при 4000 оборотах в минуту. Надосадочную жидкость отбирали и фотокolorиметрировали при длине волны 490 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя 1,0 см. Относительную дегидрогеназную активность рассчитывали как процентное отношение оптической плотности опытной пробы к оптической плотности контрольной пробы.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Анализ полученных данных показывает (табл. 1), 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. Резкий подъем активности ферментов – практически в 2 раза (+89,7%,  $p < 0,05$ ) установлен для изопропанола. При добавлении пропанола и пентанола активность дегидрогеназ увеличилась в среднем на 30%, а при внесении растворов этанола, бутанола и октанола в среднем на 15-20%. В остальных случаях отмечается тенденция к росту активности ферментов.

При добавлении спиртов из расчета 0,02 мг на 1 мл суспензии ила вновь обращает внимание резкое повышение функциональных возможностей дегидрогеназ (+131,2%;  $p < 0,05$ ), вызываемое изопропанолом. Практически на 40% повышается активность энзимов при контакте с пропанолом и пентанолом. Активизация ферментов ила наблюдается при добавлении этанола (+19,2%;  $p < 0,05$ ), бутанола (+22,9%;  $p < 0,05$ ) и октанола (+26,7%;  $p < 0,05$ ). Сохраняется тенденция к увеличению работоспособности дегидрогеназ при инкубации ила с метанолом (+12,8%;  $p < 0,05$ ), изобутанолом (+14,4%;  $p < 0,05$ ), изопентанолом (+13,2%;  $p < 0,05$ ).

Обращает внимание значительный рост активности дегидрогеназ при добавлении к илу

*Шаталаев Никита Иванович, аспирант*  
*Расцветова Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: rastsvetova\_nv@list.ru*  
*Медриш Инна Владимировна, кандидат химических наук, ассистент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: medrish@mail.ru*

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. Для бутанола, изобутанола, изопентанола и октанола динамика составила

соответственно +34,1%; +35,6%; +32,4%; +38,8% ( $p < 0,05$ ). После инкубации с метанолом было обнаружено повышение активности дегидрогеназ на 15,1% ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 1.** Относительная дегидрогеназная активность микроорганизмов 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  | -      | -      | -      |

Инкубация активного ила со спиртами в концентрации 0,2 мг на 1 мл суспензии позволила выявить противоположно направленные изменения общей дегидрогеназной активности. В пробе с добавлением октанола наблюдалось угнетение функций ферментов на 16,0%;  $p < 0,05$ . В остальных суспензиях выявлено увеличение активности дегидрогеназ, особо выраженное в смеси с 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 и 0,2 мг/мл, выявлены следующие закономерности.

В пробах с метанолом активность дегидрогеназ увеличивается абсолютно одинаково (+15,1%;  $p < 0,05$ ). Практически на одну и ту же величину возрастает активность ферментов в суспензиях с изопропанолом (172,7% и 174,3%), пентанолом (50,5% и 52,9%), изопентанолом (32,4% и 34,7%). Показатель общей дегидрогеназной активности, полученный после инкубации ила со спиртами в концентрации 0,5 мг/мл суспензии, позволяет сделать вывод о росте функциональной способности ферментов опытных проб относительно контрольной. Это прежде всего относится к смесям содержащим этанол (+113,2%;  $p < 0,05$ ), пропанол (+155,3%;  $p < 0,05$ ) и изобутанол (+89,6%;  $p < 0,05$ ). Об имеющейся тенденции к активации ферментов можно сказать про смеси, содержащие пентанол и изопентанол. В пробах, содержащих метанол, изопропанол, бутанол в концентрации 0,5 мг/мл суспензии активность дегидрогеназ изменяется менее чем на 4% относительно показателя для концентрации 0,2 мг / мл суспензии.

Анализ данных об активности дегидрогеназ ила после инкубации со спиртами в концентрации

1,0 мг/мл суспензии показал следующее. Значимое увеличение дегидрогеназной активности отмечено для смесей содержащих пропанол (+185,9%;  $p < 0,05$ ), этанол (+180,4%;  $p < 0,05$ ), изобутанол (+108,4%;  $p < 0,05$ ). В меньшей степени этот подъем 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 метанолом (+19,8%;  $p < 0,05$ ). Однако если сравнить показатели относительной дегидрогеназной активности ферментов при инкубировании со спиртами в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/мл суспензии, то увеличение активности фермента с повышением концентрации установлено для изобутанола (на 18,8%), на 30,6% для пропанола и на 67,2% для этанола. Сопоставляя величины относительной дегидрогеназной активности при концентрациях 0,5 мг/мл и 1,0 мг/мл можно отметить появление тенденции к снижению активности в смесях, содержащих пентанол (- 9,5%). Проведенные исследования показывают, что добавление водных спиртовых растворов к активному илу в концентрации 2,0 мг/мл суспензии характеризуется положительной величиной относительной дегидрогеназной активности. Сравнивая показатели для концентраций 1,0 мг/мл и 2,0 мг/мл мы можем отметить что они, либо абсолютно одинаковы (для метанола – 19,8%: для этанола – 180,4%), либо свидетельствуют о начавшемся угнетении функционирования ферментов (для смесей с бутанолом, изобутанолом, пентанолом, изопентанолом).

Таким образом, нами были установлены концентрации насыщения для ряда алифатических спиртов. Таковыми оказались для: метанола – 80-100 мг/г ила, этанола – 180-190, пропанола – 350-370, изопропанола – 40, бутанола – 35-40, изобутанола – 170-180, пентанола – 20-25, изопентанола – 150-160, октанола – 14-20 мг/г ила.

**Выводы:**

1. 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.

2. С увеличением числа атомов углерода в радикале алифатических спиртов и степени его разветвления отмечается снижение степени сродства субстрата к ферменту. Наибольшим сродством к ферментам обладают этанол, пропанол, изопропанол и изобутанол.

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

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. *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.
2. *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.
3. *Гюнтер, Л.И.* К предупреждению загрязнения водоемов сточными водами нефтехимических производств / *Л.И. Гюнтер, И.Ф. Шаталаев* // *Водные ресурсы*. 1986. № 3. С.33-37.

**INFLUENCE OF VARIOUS SPIRITS ON DEHYDROGENASE  
ACTIVITY OF ACTIVE SILT**

© 2011 N.I. Shatalaev, N.V. Rastsvetova, I.V. Medrish

Samara State Medical University

Investigated influence of various spirits on dehydrogenase activity of silt. The concentration causing substrate inhibition of silt dehydrogenase have been established.

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

---

*Nikita Shatalaev, Post-graduate Student*  
*Nataliya Rastsvetova, Candidate of Biology, Senior Lecturer*  
*at the Chemistry Department at Pharmaceuticals Faculty.*  
*E-mail: rastsvetova\_nv@list.ru*  
*Inna Medrish, Candidate of Chemistry, Assistant at the*  
*Chemistry Department at Pharmaceutical Faculty. E-mail:*  
*medrish@mail.ru*