

УДК 574.6+574.52+574.62+574.632
ББК 28.08

Д.И. Стом
И.А. Новосельцева
М.Н. Саксонов
О.С. Иванова

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ГУМАТОВ НА АЛКАНОТРОФНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ПРИ СОВМЕСТНОМ ОБЕЗВРЕЖИВАНИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЙ*

Рассмотрена возможность влияния гуминовых веществ на алканотрофные микроорганизмы, используемые в процессах совместного обезвреживания нефтезагрязнений. Показана способность гуминовых веществ очищать, гидрофобизированную поверхность от клеток и спор микроорганизмов и даже нефтепродуктов.

Ключевые слова: гуминовые вещества, адсорбенты, микроорганизмы, нефтепродукты, адгезия.

D.I. Stom
I.A. Novoseltseva
M.N. Saksonov
O.S. Ivanova

POSSIBLE MECHANISMS OF HUMATE INFLUENCE ON ALKANE-DEGRADING MICROORGANISMS DURING COMBINED DETOXIFICATION OF OIL POLLUTION

The article deals with possible humic substance influence on alkane-degrading microorganisms in the process of combined detoxification of oil pollution. It is shown that humic substances are able to purify a hydrophobized surface from cells and spores of microorganisms, as well as from oil pollution.

Keywords: humic substances, adsorbents, microorganisms, oil products, adhesion.

Введение. Нефть и нефтепродукты относятся к числу приоритетных загрязнителей Байкальского региона. Последнее время активно изучаются перспективы совместного использования для ремедиации нефтезагрязненных субстратов гуминовых веществ и алканотрофных микроорганизмов. Но жизнедеятельность последних зависит от степени их адгезирования. Поэтому поверхностно — активные вещества (ПАВ), способные повышать или снижать степень их связывания с сорбентами, оказывают большое влияние на микроорганизмы. Ранее получены предварительные данные, свидетельствующие о том, что гуминовые вещества способны вести себя как поверхностно — активные агенты [3]. В этой связи, сопоставляли влияние гуминовых веществ и ПАВ на десорбцию микроорганизмов с твердых поверхностей.

Объекты и методы исследования. Для проведения исследований брали споры штамма *Bacillus thuringiensis* [1] и клетки дрожжей —

* Работа выполнена частично при поддержке грантов: Роснауки ФЦП (ГК № 02.740.11.0018 от 15.06.2009 г. и ГК № 02.740.11.0335 от 07.07.2009 г.), а также РФФИ (08-04-98057-Сибирь_а).

Yarrowia lipolytica [2]. Как сорбирующие поверхности в работе использовали предметные стекла, которые предварительно обрабатывали силиконовым герметиком или парафином. При изучении влияния гумата — «Powhumus» (Humintech GmbH, Германия) и ПАВ: «твин-21» и «твин-85» (LOBA CHEMIE, Франция) на десорбцию микроорганизмов, на первом этапе на гидрофобизированные предметные стекла наносили каплю суспензии микроорганизмов. Спустя 30 минут стекла дважды споласкивали, опустив их в стакан с водой, а затем помещали в растворы с разными концентрациями гумата или твинов. Через определенные промежутки времени поверхность адсорбента микроскопировали при объективе 40*, как до, так и после соответствующей обработки. Подсчет клеток и спор микроорганизмов, оставшихся прикрепленными к гидрофобным поверхностям адсорбента производили в десяти полях зрения с нахождением среднего значения. Выводы сделаны на основе результатов статистической обработки при вероятности безошибочного прогноза $P \geq 0,95$.

Результаты и их обсуждения. Клетки *Y. lipolytica* как в опытах с парафином, так и в экспериментах с силиконовым покрытием, отличались более выраженной величиной адгезии, чем споры *Bac. thuringiensis*. Проведенные эксперименты показали, что в присутствии гумата происходит существенное снижение количества клеток микроорганизмов, адгезированных на их поверхности. Например, при содержании 2 г/л «Powhumus» численность клеток *Y. lipolytica* на поверхности предметного стекла, гидрофобизированного парафином, уже через 30 минут снизилась практически в два раза. Скорость десорбции спор *Bac. thuringiensis*, инициированная «Powhumus», была ниже, чем в опытах с клетками *Y. lipolytica*. Увеличение времени экспозиции сопровождалось снижением числа прикрепленных клеток *Y. lipolytica* и спор *Bac. thuringiensis* к гидрофобной поверхности. При всех использованных концентрациях гумата через 24 часа количество клеток на модельной поверхности, покрытой парафином, существенно падало. Результаты опытов с силиконовым герметиком оказались схожими с материалами экспериментов, полученными в варианте с парафином. Так концентрация гумата 1 г/л снизила количество клеток *Y. lipolytica* на предметных стеклах, поверхность которых предварительно обрабатывали силиконовым герметиком, в полтора раза только через сутки. При содержании же «Powhumus» 2 г/л близкий эффект проявлялся уже через час. В опытах со спорами *Bac. thuringiensis* обнаружили, что гумат в концентрации 1 г/л ведет себя аналогичным образом, а при содержании 2 г/л полностью снимает споры со стекол.

На следующем этапе изучали действие твинов на поверхности, стекло покрытых парафином или силиконовым герметиком. При этом установили, что растворы «твин-21» в концентрации 2 и 4 г/л через два часа полностью очищают поверхности гидрофобизированных парафином стекол от клеток *Y. lipolytica*. На обработанных же силиконовым герметиком стеклах, клетки микроорганизмов хотя и в небольших количествах, но оставались даже через 24 часа (табл. 1).

«Твин-85» в концентрации 4 г/л снизил адгезию клеток *Y. lipolytica* и спор *Bac. thuringiensis* на парафинизированной поверхности, другие его концентрации практически не оказывали влияния на адсорбцию микроорганизмов. Однако, на стеклах, обработанных силиконовым герметиком, наблюдали уменьшение количества клеток микроорганизмов

в 2 раза под действием концентраций «твин-85» 1 и 2 г/л через два часа, а 4 г/л — через час (табл. 2).

Таблица 1

Влияние «твин-21» на количество клеток штамма *Y. lipolytica* прикрепленных к поверхности стекол покрытых парафином или силиконовым герметиком, кл/мкм²

Состав	Время			
	сразу	через 1 час	через 2 часа	через 24 часа
<i>Поверхность стекол, покрытая силиконовым герметиком</i>				
«Твин-21» 1 г/л	136,2 ± 20,4	57,1 ± 8,6	47,9 ± 7,2	26,2 ± 3,9
«Твин-21» 2 г/л	42,7 ± 6,4	24,1 ± 3,6	0	0
«Твин-21» 4 г/л	0	0	0	0
Контроль (вода)	122,8 ± 18,4	124,9 ± 18,7	89,4 ± 13,4	82,1 ± 12,3
<i>Поверхность стекол, покрытая парафином</i>				
«Твин-21» 1 г/л	52,8 ± 7,9	4 ± 0,6	0	0
«Твин-21» 2 г/л	48,3 ± 7,3	2,4 ± 0,4	0	0
«Твин-21» 4 г/л	34 ± 5,1	1,4 ± 0,2	0	0
Контроль (вода)	55,2 ± 8,3	50,8 ± 7,6	34,4 ± 5,2	23 ± 3,5

Таблица 2

Влияние «твин-85» на количество клеток штамма *Y. lipolytica* прикрепленных к поверхности стекол покрытых парафином или силиконовым герметиком, кл/мкм²

Состав	Время			
	сразу	через 1 час	через 2 часа	через 24 часа
<i>Поверхность стекол, покрытая силиконовым герметиком</i>				
«твин-85» 1 г/л	103,7 ± 15,6	80,7 ± 12,1	50,5 ± 7,6	37 ± 5,6
«твин-85» 2 г/л	98,2 ± 14,7	62,3 ± 9,4	40,5 ± 6,08	25,5 ± 3,83
«твин-85» 4 г/л	86,7 ± 13	86,8 ± 13	69 ± 10,4	45,8 ± 6,9
Контроль (вода)	105,1 ± 15,8	92,4 ± 13,9	86,4 ± 12,9	77,4 ± 11,6
<i>Поверхность стекол, покрытая парафином</i>				
«твин-85» 1 г/л	118,4 ± 17,8	115 ± 17,3	113,2 ± 16,9	101,8 ± 15,3
«твин-85» 2 г/л	88,7 ± 13,3	117,4 ± 17,5	87 ± 13,1	74 ± 11,1
Контроль (вода)	173 ± 25,9	138,1 ± 20,7	148 ± 22,2	147,7 ± 22,2

Следует отметить, что снижение количества прикрепленных клеток и спор исследуемых микроорганизмов фиксировали и в контроле. Но в отсутствии гумата и твинов скоростью десорбции была несопоставимо меньше, нежели чем в их присутствии.

Микроскопирование выявило, что гуминовые вещества и ПАВ не только очищали гидрофобизированную поверхность стекол от клеток и спор микроорганизмов, но и частично нарушали целостность пленки парафина. И в данном случае твины проявляли большую активность, чем гуминовые вещества. Например, начало отслоения пленки парафина с поверхности предметного стекла в варианте с обоими твинами (2 г/л) происходило через 2 часа, а при использовании равных концентраций гумата только через сутки.

Заключение. Таким образом, гуматы, хотя и с несколько меньшей интенсивностью, подобно таким ПАВ как твины, усиливали десорбцию клеток микроорганизмов, и их спор с гидрофобизированных поверхностей. Это необходимо учитывать при комплексном обезвреживании алканотрофными микроорганизмами и гуматами от нефтезагрязне-

ний. Кроме того, и гуматы и твины инициировали отслоение парафина от сорбента. Это позволяет говорить о принципиальной возможности использования гуматов для повышения нефтеотдачи пластов при наличии высокомолекулярных фракций нефтей*.

Список используемой литературы

1. Вятчина О.Ф. Штаммы *Bacillus thuringiensis*, выделенные при эпизоотии лиственничной мухи (*Hylemyia laricicola*) в Камчатской области / О.Ф. Вятчина // Сибирский экологический журнал. — 2004. — № 4. — С. 501–506.
2. Сидоров Д.Г. Полевой эксперимент по очистке почв от нефтяного загрязнения с использованием углеводородокисляющих микроорганизмов / Д.Г. Сидоров, И.А. Борзенков, Р.Р. Ибатулин и др. // Прикладная биохимия и микробиология. — 1997. — Т. 33, № 5. — С. 497–502.
3. Стом Д.И. Возможные механизмы биологического действия гуминовых веществ / Д.И. Стом, Н.А. Боярова, А.В. Дагуров и др. // Сибирский медицинский журнал. — 2008. — № 6. — С. 76–78.

Bibliography (transliterated)

1. Vyatchina O.F. Shtammy *Bacillus thuringiensis*, vydelennyye pri epizootii listvennichnoi mukhi (*Hylemyia laricicola*) v Kamchatskoi oblasti / O.F. Vyatchina // Sibirskii ekologicheskii zhurnal. — 2004. — № 4. — S. 501–506.
2. Sidorov D.G. Polevoi eksperiment po ochistke pochv ot neftyanogo zagryazneniya s ispol'zovaniem uglevodorodokislyayushchikh mikroorganizmov / D.G. Sidorov, I.A. Borzenkov, R.R. Ibatulin i dr. // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. — 1997. — T. 33, № 5. — S. 497–502.
3. Stom D.I. Vozmozhnye mekhanizmy biologicheskogo deistviya guminovykh veshchestv / D.I. Stom, N.A. Boyarova, A.V. Dagurov i dr. // Sibirskii meditsinskii zhurnal. — 2008. — № 6. — S. 76–78.

Информация об авторах

Стом Дэвард Иосифович — доктор биологических наук, профессор, кафедра гидробиологии и зоологии беспозвоночных животных, Иркутский государственный университет, г. Иркутск, e-mail: stomd@mail.ru.

Новосельцева Ирина Анатольевна — аспирант, НИИ биологии, Иркутский государственный университет, г. Иркутск.

Саксонов Михаил Наумович — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, НИИ биологии, Иркутский государственный университет, г. Иркутск.

Иванова Ольга Сергеевна — студент, Иркутский государственный университет, г. Иркутск.

Authors

Stom Daevard Iosifovich — Doctor of Biological Sciences, Professor, Chair of Hydrobiology and Invertebrates Zoology, Irkutsk State University, Irkutsk, e-mail: stomd@mail.ru.

Novoseltseva Irina Anatoliyevna — post-graduate student, Scientific Research Institute of Biology, Irkutsk State University, Irkutsk.

Saksonov Mikhail Naumovich — PhD in Biological Sciences, Leading Research Scientist, Scientific Research Institute of Biology, Irkutsk State University, Irkutsk.

Ivanova Olga Sergeyevna — student, Irkutsk State University, Irkutsk.

* Авторы признательны И.А. Борзенкову за предоставление культур *Y. lipolytica* и О.Ф. Вятчиной (ИГУ) — за *Bac. thuringiensis*, а В.Стерн — за препарат «Powhumus».