



УДК 582.282.232:504.064.36:574

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТА ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОДЫ И ЖИДКИХ СРЕД

© 2010 Казимагомедов М.К., Исмаилов Э.Ш.

Дагестанский государственный технический университет

Рассмотрена возможность использования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в качестве удобного тест-объекта, позволяющего определить качество воды и ее растворов. Определена необходимость биологического тестирования в экологическом мониторинге.

The considered possibility of the use yeast *Saccharomyces cerevisiae* as suitable test-object, allowing define the quality of water and her its solution. Certain need of the biological testing in ecological monitoring.

Ключевые слова: качество воды, мониторинг, тест-объект, дрожжи, питательная среда.

Keywords: quality of water, monitoring, test-object, yeast, nourishing environment.

Правильное использование водных ресурсов включает в себя мониторинг качества воды, анализ экологического состояния водоемов. В этом плане общепризнано, что Каспийское море является уникальным бассейном, достаточно богатым биоресурсами. К настоящему времени исследователями накоплен обширный материал по характеристике состояния Каспийского моря, его рыбным и другим ресурсным запасам. Ведется значительная работа по физико-химическому анализу и оценке качества воды с целью предотвращения ее загрязнения [1, 2]. Это делается для достижения достаточно хорошего качества воды, в которой сохраняются и воспроизводятся рыбные и другие ресурсы. Система мониторинга качества воды включает в себя определение целого ряда показателей, которые даны в таблице 1 [3].

Таблица 1

Показатели состояния прибрежных вод Республики Дагестан (по П.В. Поставику и С.К. Монахову)

№ п/п	Задачи системы мониторинга	Контролируемые показатели
1.	Оценка поступления отдельных загрязняющих веществ в морскую среду из различных источников	Концентрация нефтяных полиароматических углеводородов, фенолов, поверхностно-активных веществ, хлорорганических соединений, тяжелых металлов, взвешенных веществ в сточных дренажных и речных водах, а также расходы этих вод в источниках сброса
2.	Оценка загрязнения морских вод и донных отложений отдельными загрязняющими веществами	Концентрация нефтяных, полиароматических углеводородов, фенолов, поверхностно-активных веществ, хлорорганических соединений, тяжелых металлов, взвешенных веществ в морской воде и донных отложениях
3.	Оценка качества морских вод по индексу загрязнений вод	Концентрация растворенного кислорода и загрязняющих веществ (см. выше)
4.	Оценка биологического разнообразия водных и донных биологических сообществ	Видовой состав фито- и зоопланктона, фито- и зообентоса, фито- и зооперифитона
5.	Оценка качества морских вод по гидро-биологическим показателям	Численность фенол- и нефтеокисляющей микрофлоры, численность и биомасса видов, являющихся индикаторами сапробности морских вод



6.	Оценка токсичности морских вод и донных отложений по данным биотестирования	Численность, физиологические и биохимические показатели состояния неадаптированных популяций тестовых организмов в экспериментах с морской водой и донными отложениями
7.	Оценка функциональной активности (первичная продукция, деструкция, ассимиляционная емкость) биологических сообществ	pH среды, концентрация растворенного кислорода, азота аммонийного, нитритного и общего, кремния, продукция фитопланктона, бактериальная деструкция, БПК, пермангантная окисляемость
8.	Оценка запасов биологических ресурсов и состояние кормовой базы промысловых гидробионтов	Численность, биомасса, возрастной и половой состав популяций рыб, являющихся объектом промысла, а также популяций гидробионтов, формирующих их кормовую базу
9.	Выявление районов нереста, нагула, зимовки и миграции рыб, являющихся объектом промысла и подлежащих особой охране	Численность, биомасса, возрастной и половой состав популяций рыб, являющихся объектом промысла или подлежащих особой охране

Как видно из таблицы, оценка качества воды производится по целому ряду физико-химических и других показателей, среди которых биотестирование в настоящее время занимает одно из главных мест. Действительно, если физико-химические способы и методы оценки качества воды позволяют определить количественное содержание экотоксикантов, то с помощью тест-объектов можно определить их реальное воздействие на обитателей водной среды при тех или иных сочетаниях нескольких или даже множества факторов. Поэтому для эффективной оценки состояния и качества воды и водных сред целесообразна комплексная оценка, позволяющая определить качество воды, включающая в себя как химический анализ состава примесей, так и определение влияния изучаемой среды на биологические тест-объекты.

В этом плане в Дагестанском государственном техническом университете проделана значительная работа в рамках проекта «Мониторинг загрязнения нефтепродуктами Каспийского шельфа и внедрения современных технологий по обезвреживанию экотоксикантов» [4]. Определены содержание органических примесей нефтепродуктов в водной среде западного побережья Каспийского моря [5], а также распределение тяжелых металлов в воде и донных отложениях [6]. Весьма важно, что наряду с этими физико-химическими исследованиями по тому же проекту был осуществлен биохимический мониторинг токсичности загрязнения морских вод [7]. Привлекательность тест-методов анализа воды и других объектов окружающей среды обусловлена еще и тем, что они позволяют переместить физико-химический мониторинг из специально оборудованных лабораторий к местам расположения анализируемых объектов [8], дают возможность «сделать проводимые анализы более экспрессными и менее дорогостоящими, не требующими существенной предварительной подготовки и сложного лабораторного анализа». В соответствии с вышеуказанным проектом был разработан новый способ биотестирования качества морской воды с использованием дрожжевых микроорганизмов *Saccharomyces cerevisiae*. Удобство такого выбора определяется тем, что, с одной стороны, клетки дрожжей по своему составу и строению схожи с эукариотическими клетками, а с другой – весьма чувствительны к внешним воздействиям. Под влиянием различных факторов они существенно меняют свой биохимизм, осуществляемый с участием соответствующих ферментов. Проведенные исследования показали, что используемые в хлебопекарной промышленности дрожжи можно эффективно применять в качестве тест-объекта для оценки качества воды, в которой находятся различные примеси. Было выявлено, что под влиянием тех или иных примесей (экотоксикантов), превышающих ПДК, происходит снижение бродильной энергии дрожжей. Учитывая способность дрожжей изменять биохимическую активность при действии различных факторов среды, перед нами была поставлена задача их использования в качестве тест-объекта для оценки действия стимулирующих, оздоравливающих экологическую обстановку факторов. В качестве одного из таких факторов, влияющих через водную среду, был выбран биостимулятор, получивший название «экстракт кормовых дрожжей для мик-



робиологических питательных сред, сухой» [9], выпущенный научно-производственным объединением «Питательные среды». Действие этого биостимулятора было исследовано в производственных условиях на биохимическом заводе в г. Ефремово Тульской области.

В качестве объекта для биохимического тестирования взяты дрожжи спиртового брожения *Saccharomyces cerevisiae* расы XII, выращенные из чистой культуры. Стадия культивирования дрожжей включает в себя три традиционных технологических приема:

- приготовление образцов дрожжей для последующей разводки из чистой культуры;
- подготовка необходимого оборудования дрожжевого отделения, где готовятся производственные дрожжи;
- сам процесс приготовления производственных дрожжей.

При этом разведение чистой культуры на заводе проводят в отдельном чистом помещении, где в колбе получают взвесь исходной культуры дрожжей в стерильном сусле. Затем колбу с дрожжами ставят в термостат, где на жидкой питательной среде (сусло) эти микроорганизмы начинают процесс брожения. Не позднее, чем через 22 часа, бродящее дрожжевое сусло переливают в большую бутылку, содержащую 5 литров стерильного сусла. Бутылку помещают в термостат и продолжают брожение при температуре 30°C. Через определенное время содержимое бутылки переливают в емкость (маточник) с 50 литрами стерильного нефильтрованного сусла. В маточнике брожение сусла продолжается в течение от 16 до 20 часов при температуре от 28 до 30°C. Полученные таким образом производственные дрожжи используются для засева в дрожжаники, имеющие большой объем. В дрожжанике и осуществляется выращивание производственных дрожжей, концентрация которых составляет обычно не менее 90 млн./см³.

Для исследования была подготовлена суспензия дрожжей в виде бражки из дрожжаники. Ее налили в две колбы емкостью 500 мл по 300 мл в каждую и поместили в термостат при температуре 28°C для осуществления процесса брожения. После часовой инкубации в термостате в вариантах «контроль» и «опыт» была исследована энергия брожения на специальном стенде [10]. При этом в опытном варианте в суспензию дрожжей добавили биостимулятор – экстракт кормовых дрожжей в концентрации 0,1% от общей массы смеси. В результате выявлено, что в «контроле» без добавки биостимулятора выход CO₂ (называемый бродильной энергией) в течение 2 часов наблюдения составил в среднем 22 мл, а в опытном варианте с добавлением биостимулятора – 34 мл. Это значит, что добавление экстракта кормовых дрожжей повысило бродильную энергию примерно в 1,5 раза. Одновременно сильно возросло число живых клеток: если в контроле это число составило 97 млн./мл, то в опыте оно достигло 192 млн./мл. Причем в опытном варианте под микроскопом клетки дрожжей выглядели более крупными, «упитанными».

Таким образом, в целом, полученные экспериментальные данные позволяют считать, что дрожжевые микроорганизмы *Saccharomyces cerevisiae* вполне успешно могут быть использованы в качестве тест-объектов. Они в достаточной мере чувствительны к изменению состава питательной среды; под влиянием неблагоприятных, токсичных факторов происходит снижение их биохимической активности. А добавление биостимулятора существенно увеличивает их ферментативные энергетические и обменные процессы. Поэтому данный вид микроорганизмов может быть использован для мониторинга качества воды и водных растворов, а также для определения эффективности биологически активных веществ.

Библиографический список

1. Гаджиев А.А., Шихшабеков М.М., Абдурахманов Г.М., Мунгиев А.А. Экологическое состояние Среднего Каспия. Анализ экологического состояния Среднего Каспия и проблема воспроизводства рыб. – Москва: Наука, 2003. – С. 3-155.
2. Абдурахманов Г.М., Магомедов М.-Р.Д. Современное состояние природной среды и проблемы сохранения биологического и территориального разнообразия Прикаспийского региона. // Юг России: экология, развитие. – №1, 2007. – С. 7-17.
3. Поставик П.В., Монахов С.К. Информационное обеспечение управления использованием и охраной прибрежных вод Дагестана. // Экологический вестник Минприроды Республики Дагестан. – №3, 1999. – С. 45-49.
4. Вагабов М.-З.В., Исмаилов Э.Ш., Рабаданов Г.А. и др. Мониторинг загрязнения нефтепродуктами Каспийского шельфа и внедрение современных техно-



логий по устранению экологических токсикологических веществ (Заключительный отчет). Дагестанский технический университет. – Махачкала, 2004. – 70 с. 5. Вагабов М.-З.В., Исмаилов Э.Ш., Рабаданов Г.А. и др. Содержание органических примесей в водной среде западного побережья Каспия. // Химическое загрязнение среды обитания и проблемы экологической реабилитации нарушенных экосистем». – Пенза, 2004. – С. 42-45. 6. Исмаилов Э.Ш., Рабаданов Г.А., Буганов Г.А., Абдуллаев Р.Р. Распределение тяжелых металлов в воде и донных отложениях Каспийского моря. // Химическое загрязнение среды обитания и проблемы экологической реабилитации нарушенных экосистем». – Пенза, 2004. – С. 76-78. 7. Исмаилов Э.Ш., Вагабов М.-З.В., Рабаданов Г.А. и др. Биохимический мониторинг токсичности загрязнения морских вод. // Окружающая среда и здоровье. – Пенза, 2004. – С. 67-70. 8. Золотов Ю.А. Тест-методы анализа объектов окружающей среды. Тез. докл. Всероссийской конференции «Экоаналитика 94». – Краснодар, 1994. – С. 3-4. 9. Каталог сухих микробиологических питательных сред. 4-е издание. – Махачкала: ИПО «Юпитер», 1995. – 7 с. 10. Исмаилов Э.Ш., Вагабов М.-З.В., Аливердиева А.А. Определение биологической активности пищевых растительных компонентов. // Аналитические методы измерений и приборы в пищевой промышленности. – М., 2005. – С. 246-249.

УДК 579.66

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОПТИМИЗАЦИИ МИКРОФЛОРЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ СУБСТРАТОВ

© 2010 Смольникова В.В., Емельянов С.А.

Северо-Кавказский государственный технический университет

Описаны физико-химические процессы, протекающие в почвах загрязненных углеводородами нефти. Рассмотрен биологический метод очистки и восстановления экологической функций нефтезагрязненных почв, основанный на интенсификации процессов биodeградации углеводородов нефти, за счет создания оптимальных условий жизнедеятельности аборигенной углеводородокисляющей микрофлоры.

The physical and chemical processes proceeding in soils polluted hydrocarbons of oil are described. The biological method of clearing and restoration ecological functions of the petropolluted soils, based on an intensification of processes of biodegradation of hydrocarbons of oil, at the expense of creation of optimum conditions of ability to live native carbon oxidizing microflorae is considered.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, очистка субстратов, компост, молочная сыворотка, дождевые черви.

Keywords: oil pollution, clearing of substrata, compost, dairy whey, earthworms.

В настоящее время нефть является наиболее широко используемым топливно-энергетическим ресурсом. По оценкам экспертов в мире ежегодно в окружающую среду попадает более 45 млн. т. нефти и нефтепродуктов или 2% от ежегодной мировой добычи. Загрязнение нефтью и нефтепродуктами приводит к глубокому изменению физических, химических и биологических свойств почв. Частицы почвы слипаются, образуя крупные, трудноразрушаемые агломераты. Нефть обладает ярко выраженными гидрофобными свойствами, поэтому, обволакивая биологически активные вещества почв, делает их недоступными для водорастворимых ферментов и корневой системы растений. Нефть адсорбируется частицами почвы, заполняя поры и вытесняя почвенный воздух. На границе адсорбционного слоя формируется пространственный каркас коагуляционной структуры, дальнейшее уплотнение которого приводит к образованию аномального граничного слоя нефти толщиной до 5-20 мкм. Вязкость нефти в этом слое выше вязкости нефти в объеме примерно в 10 раз [1].

Загрязнение почвы углеводородами нефти приводит к потере продуктивности земель и деградации ландшафтов. Исследования разливов нефти показали, что полная регенерация биоценозов не достигается даже через 25 лет после аварии. Продуктивность почвы во многом обуслови-