

УДК 574.6+574.52+574.62+574.632  
ББК 28.08.

**Д.И. Стом**

доктор биологических наук, профессор  
Иркутского государственного университета, г. Иркутск  
e-mail: [stomd@mail.ru](mailto:stomd@mail.ru)

**И.А. Новосельцева**

аспирантка очной формы обучения НИИ биологии при ИГУ,  
г. Иркутск

**М.Н. Саксонов**

кандидат биологических наук,  
ведущий научный сотрудник НИИ биологии при ИГУ,  
г. Иркутск

**О.С. Иванова**

студентка Иркутского государственного университета,  
г. Иркутск

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

**Аннотация.** Изучали 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, ПАВ, адсорбенты, микроорганизмы, нефтепродукты, адгезия.

**D.I. Stom**

Doctor of Biological Sciences, professor of  
Irkutsk state university, Irkutsk  
e-mail: [stomd@mail.ru](mailto:stomd@mail.ru)

**I.A. Novoselceva**

post-graduate student of Irkutsk state university,  
Irkutsk

e-mail: [stomd@mail.ru](mailto:stomd@mail.ru)

**M.N. Saksonov**

Cand. biol. sci., leading research worker of  
Scientific research institute of biology at ISU,

Irkutsk  
**O.S. Ivanova**  
student of Irkutsk state university,  
Irkutsk

## THE POSSIBLE MECHANISMS OF HUMATE' INFLUENCE ON ALKANE-DEGRADING MICROORGANISMS AT JOINT DETOXIFICATION OF OIL POLLUTION

**Annotation.** Possibility of humic substances' influence on alkane-degrading microorganisms used in process of joint detoxification of oil pollution was studied. It is shown that ability of humic substances to purify a surface hydrophobized from cells and spores of microorganisms and oil pollution also.

**Key words:** humic substances, SAA, 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 [2]. 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 - *Yarrowia lipolytica* [3]. 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 1г/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 1г/л ведет себя аналогичным образом, а при содержании 2 г/л полностью снимает споры со стекол.

На следующем этапе изучали действие твинов на поверхности, стёкол 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).

Таблица 1. – Влияние «твин-21» на количество клеток штамма *Y. lipolytica* прикрепленных к поверхности стекол покрытых парафином или силиконовым герметиком, кл/мкм<sup>2</sup>

Время / Состав	сразу	через 1 час	через 2 часа	через 24 часа
<b>Поверхность стекол, покрытая силиконовым герметиком</b>				

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

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

Таблица 2. – Влияние «твин-85» на количество клеток штамма *Y. lipolytica* прикрепленных к поверхности стекол покрытых парафином или силиконовым герметиком, кл/мкм<sup>2</sup>

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

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

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).

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вятчина О.Ф. Штаммы *Bacillus thuringiensis*, выделенные при эпизоотии лиственничной мухи (*Hylemyia laricicola*) в Камчатской области // Сибирский экологический журнал. – 2004. – № 4. – С. 501 – 506.

2. Стом Д.И. Возможные механизмы биологического действия гуминовых веществ/ Д.И. Стом, Н.А. Боярова, А.В. Дагуров, О.Ф. Вятчина, М.Н. Саксонов// Сибирский медицинский журнал.-2008. – №6.- С. 76-78.

3. 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.