



УДК 574.64 + 579.6 + 663.1

## Использование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для биотестирования нефтезагрязнений

О. Ф. Вятчина, Г. О. Жданова, Д. И. Стом

Иркутский государственный университет, НИИ биологии при ИГУ, г. Иркутск

E-mail: stomd@mail.ru

**Аннотация.** Разработан экспресс-метод оценки токсичности нефтепродуктов в водной среде. Метод основан на изменении подъемной силы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* под действием токсикантов. Показан положительный эффект препарата «Powhumus» как на дрожжи, так и на систему «дрожжи – нефтепродукт».

**Ключевые слова:** биотестирование, токсичность, нефть, нефтепродукты, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, гуматы.

В негативном процессе загрязнения окружающей среды во многих случаях ключевую роль играют продукты добычи и переработки нефти и газа, в том числе сырая нефть, моторное топливо, смазочные масла и т. п. Все они представляют сложную смесь веществ, включающих в себя, помимо преобладающих в количественном отношении углеводов различной молекулярной массы (от простейших пентана, гексана до тяжелых фракций – битумов, смол, асфальтенов) и строения (алифатические, нафтеновые, ароматические), также органические соединения, содержащие азот, кислород, серу и многие другие элементы. Широкое разнообразие соединений, попадающих в окружающую среду, в совокупности с непостоянством состава (разные месторождения нефти содержат соответствующие компоненты в различных соотношениях; особенно это касается гетероциклических соединений, ароматических и нафтеновых углеводов) создает большие трудности при выделении и последующем биологическом анализе нефтепродуктов (НП). Известные методы биотестирования нефтепродуктов не отличаются высокой экспрессностью. В этой связи целью данного сообщения явилась попытка преодолеть отмеченные негативные моменты.

### Материал и методы

Влияние препарата «Powhumus» на степень токсичности нефтепродуктов по отношению к дрожжам *S. cerevisiae* определяли, добавляя препарат непосредственно в процессе приготовления шариков теста, а также после 20-минутной обработки суспензии дрожжей перед внесением токсикантов. Во всех вариантах опыта концент-

рация препарата «Powhumus» составляла 0,1 %. Предварительно определяли влияние гуматов на подъемную силу дрожжей при непосредственном внесении препарата в момент приготовления шариков и после двадцатиминутного его воздействия на дрожжи.

Для статистической обработки применяли пакет программ Statistica 5.0. В таблицах 1–6 представлены среднеарифметические величины и доверительный интервал при вероятности безошибочного прогноза  $P \geq 0,95$ . Выводы, полученные при сопоставлении результатов, также сделаны при  $P \geq 0,95$ .

### Результаты и обсуждение

Высокие концентрации нефтепродуктов (гексадекан и дизельное топливо от 10 до 50, нефть от 20 до 50 %) оказывали угнетающее воздействие на физиологическую активность дрожжей *S. cerevisiae*, что выражалось в достоверном увеличении времени всплытия шариков по сравнению с данными контрольного опыта (табл. 1).

Имеются сообщения о способности гуминовых веществ снижать токсичность ряда загрязнителей [2; 3]. В связи с этим исследовали действие препарата «Powhumus» (концентрация 0,1 %) на систему «дрожжи – нефтепродукт». Предварительное определение влияния препарата «Powhumus» на физиологическую активность *S. cerevisiae* выявило, что при непосредственном внесении гумата в момент приготовления шариков показатели определения подъемной силы дрожжей достоверно не отличались от таковых в контроле. После двадцатиминутного воздействия гуматов на дрожжи повышалась их работоспособность (табл. 2).

Добавление препарата «Powhumus» в концентрации 0,1 % в эмульсию нефти при непосредственном приготовлении шариков показало, что подъемная сила дрожжей достоверно не отличалась от контрольных данных (табл. 3).

После предварительной обработки дрожжей гуматом в течение 20 мин наблюдали уменьшение токсичности нефтепродуктов, что выражалось в достоверном снижении времени всплытия шариков теста (табл. 4, 5, 6).

Таким образом, метод определения подъемной силы дрожжей может быть использован для экспрессной оценки степени токсичности нефтепродуктов в водной среде. Достоинством ме-

тода является возможность быстрого определения степени загрязнения среды токсикантом при минимальных затратах. Проведенные исследования выявили положительный эффект препарата «Powhumus» как на дрожжи, так и на систему «дрожжи – нефтепродукт».

#### Благодарности

Авторы признательны Dergham, B. Stern («Humintech GmbH», Германия) за любезно предоставленный препарат «Powhumus».

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ и ГФЕНа № 06–04–39003.

Таблица 1

Влияние нефтепродуктов на подъемную силу дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

t воздуха	Нефтепродукт	Концентрация нефтепродукта, %	Подъемная сила дрожжей, мин.		td
			Опыт (мука+дрожжи+нефтепродукт)	Контроль (мука+дрожжи+вода)	
24 °С	Гексадекан	10	13,2±0,33	11,9±0,23	3,23
		20	14,1±0,72		2,91
		30	15,9±1,5		2,64
		50	17,4±1,17		4,61
26 °С	Нефть	10	16,0±0,79	14,2±0,95	1,46
		20	19,0±0,87		4,04
		30	20,8±1,36		3,95
		50	25,3±1,46		7,66
27 °С	Дизельное топливо	10	13,3±0,26	12,1±0,35	2,75
		20	15,4±0,52		5,26
		30	16,3±1,05		3,79
		50	21,6±1,23		7,43

Примечание: t табл. = 2,1 при P = 0,95

Таблица 2

Влияние препарата «Powhumus» (0,1 %) на подъемную силу дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

t воздуха	Предварительная обработка дрожжей препаратом, мин	Подъемная сила дрожжей, мин		td
		Опыт (дрожжи+гумат+мука)	Контроль (мука+дрожжи+вода)	
24 °С	0	16,6±0,54	17,1±0,32	0,80
20 °С	20	15,8±0,39	19,6±0,62	5,19

Примечание: t табл. = 2,1 при P = 0,95

Таблица 3

Влияние препарата «Powhumus» (0,1 %) на систему «дрожжи – нефтепродукт» (без предварительной обработки дрожжей препаратом)

Концентрация нефти, %	Подъемная сила дрожжей, мин		td
	Опыт 1 (мука+дрожжи+нефть)	Опыт 2 (мука+дрожжи+нефть+гумат)	
10	20,4±2,90	17,1±0,66	1,11
20	20,0±1,77	19,0±0,54	0,54
30	25,5±1,63	25,2±2,26	0,11
50	36,4±4,62	32,2±2,45	0,81

Примечание: t воздуха 23 °С, t табл. = 2,1 при P = 0,95

Таблица 4

Действие препарата «Powhumus» (0,1 %) на систему «дрожжи – нефтепродукт»  
(с предварительной обработкой дрожжей препаратом)

Концентрация нефти, %	Подъемная сила дрожжей, мин		td
	мука+дрожжи+нефть	мука+дрожжи+гумат+нефть	
0,1	15,0±0,42	11,9±0,28	6,14
1	14,1±0,51	13,0±0,49	1,56
10	13,5±0,43	11,4±0,43	3,45
20	13,9±0,38	11,8±0,80	2,37
30	14,2±0,29	12,3±0,36	4,11

Примечание: t воздуха 23 °С; t табл. = 2,1 при P = 0,95

Таблица 5

Действие препарата «Powhumus» (0,1 %) на систему «дрожжи – гексадекан»  
(с предварительной обработкой дрожжей препаратом)

Концентрация гексадекана, %	Подъемная сила дрожжей, мин		td
	мука+дрожжи+гексадекан	Мука+дрожжи+гумат+гексадекан	
0,1	13,5±0,50	11,4±0,22	3,84
1	8,7±0,39	6,9±0,18	4,19
10	8,1±0,41	7,5±0,22	1,29
20	10,3±0,26	8,4±0,27	5,07
30	10,7±0,40	7,0±0,21	8,19

Примечание: t воздуха 23 °С ; t табл. = 2,1 при P = 0,95

Таблица 6

Действие препарата «Powhumus» (0,1 %) на систему «дрожжи – дизельное топливо»  
(с предварительной обработкой дрожжей препаратом)

Концентрация дизельного топлива, %	Подъемная сила дрожжей, мин		td
	мука+дрожжи+дизельное топливо	мука+дрожжи+гумат + дизельное топливо	
0,1	10,6±0,27	9,5±0,22	3,16
1	10,7±0,21	9,2±0,36	3,59
10	11,1±0,23	8,8±0,36	5,38
20	11,4±0,27	9,1±0,46	4,31
30	12,2±0,39	10,3±0,30	3,86

Примечание: t воздуха 23 °С; t табл. = 2,1 при P = 0,95

### Литература

1. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для студ. вузов. / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук и др. // под ред. А. И. Нетрусова. – М. : «Академия», 2005. – 608 с.

2. Стом Д. И. Комбинированное действие нефтепродуктов и «Гумата» на дафний / Д. И. Стом,

А. В. Дагуров // Сиб. экол. журн. – 2004. – № 1. – С. 35–40.

3. Steinberg C. E. Towards a Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) of Dissolved Humic Substances as Detoxifying Agents in Freshwaters / C. E. Steinberg, M. Haitzer, R. Bruggemann et al. // Internat. Rev. Hydrobiol, 2000. – P. 253–266.

## Using of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts for petropollution biotesting

O. F. Vyatchina, G. O. Zhdanova, D. I. Stom

Irkutsk State University

**Abstract.** The express-method of an estimation of mineral oil toxicity in the water environment is developed. The method is based on change of *Saccharomyces cerevisiae* yeast elevating force under toxicant action. The positive effect of a preparation «Powhumus» both on yeast, and on system «yeast-mineral oil» is shown.

**Key words:** biotesting, toxicity, oil, mineral oil, yeast *Saccharomyces cerevisiae*, humats.

*Вятчина Ольга Федоровна,  
Иркутский государственный университет,  
664003 г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5,  
кандидат биологических наук, доцент,  
тел. (3952) 24-18-70 (факс) (395 2) 24-18-55,  
E-mail: stomd@mail.ru*

*Vyatchina Olga Fedorovna  
Irkutsk State University  
5, Sukhe-Batora St., Irkutsk, 664003  
Ph.D. in Biology, ass. prof  
Phone (3952) 24-18-70., fax (3952)24-18-55  
E-mail: stomd@mail.ru*

*Стом Дэвард Иосифович,  
Иркутский государственный университет,  
664003 г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5,  
доктор биологических наук, профессор,  
тел. (3952) 24-18-70, (факс) (395 2) 24-18-55,  
E-mail: stomd@mail.ru*

*Stom Devard Iosifovitch  
Irkutsk State University  
5, Sukhe-Batora St., Irkutsk, 664003  
D.Sc. in Biology, Prof.  
Phone. (3952) 24-18-70 (факс) (3952) 24-18-55,  
E-mail: stomd@mail.ru*

*Жданова Галина  
Иркутский государственный университет,  
664003 г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 5  
аспирант  
тел. (3952) 24-18-70, (факс) (395 2) 24-18-55,  
E-mail: stomd@mail.ru*

*Zhdanova Galina  
Irkutsk State University  
5, Sukhe-Batora St., Irkutsk, 664003  
doctoral student  
Phone. (3952) 24-18-70 (факс) (3952) 24-18-55,  
E-mail: stomd@mail.ru*