

Н. А. Степанов^{1,2}, О. В. Сенько^{1,2}, Е. Н. Ефременко^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
119991, Россия, г. Москва, Ленинские горы, 1/3,

elena_efremenko@list.ru,

²Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН,
119334, Россия, г. Москва, Косыгина, 4

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК, УЧАСТВУЮЩИХ В ПРОЦЕССЕ МЕТАНОГЕНЕЗА

Ключевые слова: гуминовые кислоты, фульвовые кислоты, бактериальные клетки, метаногенез, АТФ, биолюминесценция

Свалки твердых бытовых отходов представляют серьезную опасность для окружающей среды и человека из-за активного выделения свалочного газа, в составе которого преобладают CH_4 и CO_2 . В России ежегодно образуется около 5 млрд тонн твердых бытовых отходов (ТБО), большая часть которых утилизируется на свалках, число которых составляет порядка 11000 [1].

К настоящему времени известны работы, ориентированные на подавление метаболической активности клеток, участвующих в процессе метаногенеза, в присутствии гуминовых веществ (ГВ) [2–3]. Например, в процессе метаногенеза целлюлозы и ксилана микробиологический анализ показал, что концентрации бактериальных клеток родов *Clostridiales*, *Bacteroidales* и *Anaerolineales* значительно снижались в присутствии ГВ [4]. Авторы связывают этот эффект с ингибированием гидролитической стадии метаногенеза из-за образования комплексов ГВ с ферментами, снижающими их активность, и, как следствие, доступность всех микроорганизмов, участвующих в метаногенезе, к субстратам.

В данной работе исследовалось влияние растворимых форм разных ГВ на индивидуальные бактериальные культуры (*Pseudomonas sp.*, *Clostridium acetobutylicum* и *Enterococcus faecalis*), катализирующие трансформацию различных субстратов в процессе метаногенеза. Для оценки влияния ГВ на метаболическую активность клеток использовался биолюминесцентный люциферин-люциферазный метод определения концентрации внутриклеточного аденозинтрифосфата (АТФ).

В качестве ГВ в работе использовался гумата калия (ГК) и фульвовые кислоты (ФК) (HUMINTECH GmbH, Германия). Бактериальные клетки культивировались в анаэробных реакторах с питательной средой, содержащей 1 г/л глюкозы в качестве единственного источника углерода в течение 7 сут.

Анализ концентрации внутриклеточного АТФ в клетках индивидуальных бактериальных культур после их анаэробного культивирования показал, что введение разных ГВ в среды приводило к снижению общего энергетического статуса практически всех исследуемых клеток (Таблица). Ингибирующий эффект ГК на клетки увеличивался с повышением его концентрации в среде до 10 г/л.

Таблица

Влияние разных ГВ на концентрацию внутриклеточного АТФ (моль/мл)×10⁻¹² в процессе анаэробного культивирования чистых бактериальных культур

Концентрация ГВ, г/л	<i>C. acetobutylicum</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>E. faecalis</i>
Без ГВ	3,4±0,2	28,9±1,1	14,4±1,3
ГК-1	3,3±0,3	13,3±0,4	6,5±0,3
ГК-5	1,2±0,2	7,5±0,3	3,1±0,2
ГК-10	0,3±0,1	4,5±0,2	1,5±0,1
ФК-1	3,2±0,2	72,3±4,6	11,2±0,4
ФК-5	1,4±0,3	76,5±4,5	5,6±0,3
ФК-10	0,5±0,1	88,5±5,5	2,2±0,1

Однако при введении ФК в среды с клетками *Pseudomonas sp.* концентрация внутриклеточного АТФ наоборот увеличилась по сравнению с исходными значениями. Анализ кинетики накопления Н₂ в составе газов, продуцируемых индивидуальными культурами бактерий (*C. acetobutylicum* и *E. faecalis*) на стадии ацетогенеза, показал, что увеличение исходной концентрации ГВ снижает синтез этого газа клетками, что, по-видимому, является одной из причин снижения уровня накапливающегося метана, так как именно водород и углекислый газ могут быть использованы для синтеза метана метаногенами в дополнение к основной ацетокластической стадии.

Список литературы

1. Terenteva I. E., Sabrekov A. F., Glagolev M. V., Kotsyurbenko O. R. // Russ. Meteorol. Hydrol. 2017. Vol. 42. P. 327–334.
2. Khadem A. F., Azman S., Plugge C. M., Zeeman G., van Lier J. B., Stams A. J. // Biomass Bioenergy. 2017. Vol. 99. P. 21–30.
3. Yap S. D., Astals S., Lu Y., Peces M., Jensen, P. D., Batstone D. J., Tait S. // Waste Manag. 2018. Vol. 80. P. 130–136.
4. Azman S., Khadem A. F., Plugge C. M., Stams A. J., Bec S., Zeeman G. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2017. Vol. 101. P. 889–901.

* Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-25065.