

тетразолиевого (1 мг/мл) – 30 мл, L-глутамата натрия 1 М раствора с рН 7,0 – 5 мл, феназинметасульфата (1 мг/мл) – 2 мл, 0,1 М фосфатного буфера с рН 7,0 – до 100 мл. Инкубировали 3 ч при 37°C. МФ ГДГ выявлялись в виде темно-синих зон [1].

Относительную активность МФ фермента устанавливали путем прямой денситометрии на анализаторе фореграмм АФ-1 (ПО «Львовприбор», Украина). Количество белка в образцах определяли биуретовой реакцией.

Результаты исследования и их обсуждение

ГДГ иммобилизованного микроценоза в процессе биологической очистки сточных вод НПЗ в анаэробно-аэробных условиях представлена пятью МФ: основной – ГДГ-5 и минорными, незначительно отличающимися по электрофоретической подвижности, представляющими, по-видимому, конформационные изомеры фермента (рис. 1).

На входе в первую ступень в относительно анаэробных условиях основная активность фермента локализована в области ГДГ-5.

В центре биореактора и на выходе из него в условиях микроаэрации отмечали значительную инактивацию ГДГ-1 и ГДГ-5 при одновременном росте активности ГДГ-2 и ГДГ-3. На второй ступени очистки наблюдали продолжение роста активности ГДГ-2 и ГДГ-3 и активацию ГДГ-4. Активность ГДГ-1 ниже таковой входа в первую ступень, а активность ГДГ-5 снижается до минимума. Заслуживает внимания резкая перестройка в соотношении активности МФ ГДГ в отстойниках: двух-пятикратная активация ГДГ-5 и снижение активности МФ ГДГ-1, ГДГ-2 и ГДГ-3 (табл. 1).

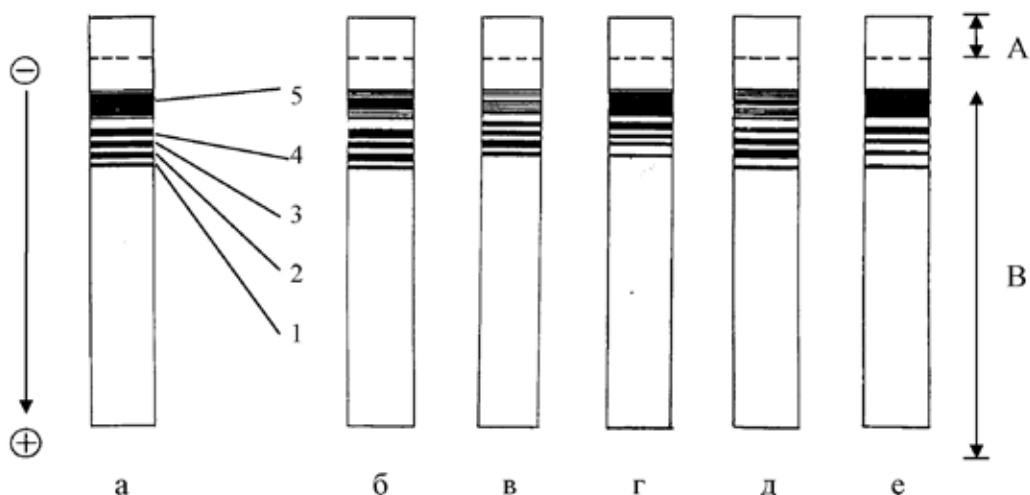


Рис. 1. Спектры МФ ГДГ первой ступени на входе в биореактор (а), в центре (б), на выходе (в), во вторичном отстойнике (г), в центре второй ступени (д), во вторичном отстойнике второй ступени (е):

А – концентрирующий гель; В – разделяющий гель; 1–5 – зоны активности ГДГ

Таблица 1

Динамика относительной активности МФ ГДГ иммобилизованного ценоза

МФ ГДГ	Относительная активность, %					
	Первая ступень биореактора				Вторая ступень биореактора	
	вход	центр	выход	отстойник	центр	отстойник
ГДГ-1	12,0±0,4	8,2±0,2	6,1±0,2	3,8±1,5	8,7±0,4	1,0±0,03
ГДГ-2	18,0±0,7	27,7±1,2	35,8±1,6	7,4±0,3	38,8±1,8	5,5±0,2
ГДГ-3	15,8±0,7	18,5±0,7	20,0±0,8	10,0±0,4	22,2±0,9	14,0±0,6
ГДГ-4	14,5±0,6	13,5±0,6	14,0±0,6	19,3±0,8	23,0±0,8	32,0±1,4
ГДГ-5	39,7±1,7	34,1±1,6	24,1±1,1	59,5±2,4	8,1±0,3	47,5±2,1

Это может быть объяснено изъятием загрязнителей, их окислением и улавливанием энергии в форме аденилатов, которые в свою очередь являются отрицательными эффекторами реакции окислительного дезаминирования глутамата.

Установлена следующая динамика общей активности ГДГ в процессе очистки сточных вод иммобилизованным микроценозом: максимальная на входе в первую ступень, постепенное снижение к выходу из биореактора и достижение активности входа во вторичном отстойнике. На второй ступени в центре биореактора активность ГДГ становится на уровне таковой выхода из первой ступени, отмечена активация фермента во вторичном отстойнике.

Анализ динамики изменений в соотношениях активности МФ ГДГ позволяет предположить, что ГДГ-4 и ГДГ-5 проявляют максимальную активность в относительно анаэробных условиях. Этот факт заслуживает внимания, поскольку именно в этих областях концентрируется основная масса фермента, более низкомолекулярные формы активны в анаэробно-аэробных условиях.

Показатели работы биореактора и динамика активности МФ ГДГ свидетельствуют

о неблагоприятном функциональном состоянии иммобилизованного микроценоза, преобладании анаэробных процессов над аэробными и снижении эффективности очистки сточных вод. После коррекции технологии, предполагающей увеличение концентрации кислорода в воде на выходе из первой ступени очистки и во всем объеме второй ступени очистки, получены следующие результаты. Число МФ ГДГ осталось равным пяти, причем, на фоне незначительного снижения общей активности фермента к выходу из первой ступени очистки установлены следующие изменения в соотношении активности МФ в разных точках биореактора: активация ГДГ-1 от входа к центру и незначительное снижение таковой к выходу из биореактора, активация ГДГ-2 и ГДГ-3 и снижение активности ГДГ-4 и ГДГ-5. В центре второй ступени отмечено увеличение активности ГДГ-2 и ГДГ-3 и снижение таковой у ГДГ-5. В отстойниках основная активность сконцентрирована в области ГДГ-4 и ГДГ-5. Показатели работы биореактора до и после коррекции технологии очистки представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Показатели работы биореактора до и после коррекции технологии очистки

Показатель	До коррекции	После коррекции
ХПК, мг O ₂ /л	240,0	132,0
БПК5, мг O ₂ /л	28,7	18,0
БПКполн, мг O ₂ /л	33,5	24,0
Прозрачность, см	5,4	8,2
Содержание, мг/л:		
кислород	1,5	4,8
поверхностно-активные вещества	3,5	2,2
фенол	0,012	0,009
нефтепродукты	2,7	1,8
взвешенные вещества	72,0	28,0
сульфаты	337,0	287,0
сероводород	отс.	отс.
нитриты	0,4	0,3
нитраты	0,9	0,9
азот аммонийный	41,0	38,0
фосфаты (P2O5)	0,6	0,1
медь	0,008	0,008
железо	1,6	0,7

Таблица 3

Динамика относительной активности МФ ГДГ после коррекции технологии очистки

МФ ГДГ	Относительная активность, %					
	Первая ступень биореактора				Вторая ступень биореактора	
	вход	центр	выход	отстойник	центр	отстойник
ГДГ-1	9,5±0,4	12,0±0,5	10,8±0,4	8,1±0,4	7,7±0,3	6,1±0,2
ГДГ-2	5,5±0,2	11,3±0,5	13,8±0,5	13,2±0,6	21,2±0,9	11,4±0,5
ГДГ-3	12,8±0,5	7,1±0,3	24,1±1,0	3,6±0,15	20,2±0,8	10,2±0,4
ГДГ-4	18,4±0,8	19,0±0,8	14,5±0,6	17,3±0,7	20,7±0,8	22,8±0,9
ГДГ-5	53,8±2,4	50,6±2,0	37,8±1,7	57,8±2,7	30,2±1,3	49,5±2,3

В водной среде биореактора первой ступени выявлены три зоны с выраженной ГДГ активностью, причем они отличаются от эндоферментов большей электрофоретической подвижностью (рис. 2).

яущая основную (ГДГ-5) и минорные формы фермента. Увеличения гетерогенности ГДГ в процессе развития экосистем не выявлено.

2. Структурная организация и динамика активности МФ фермента в процессе

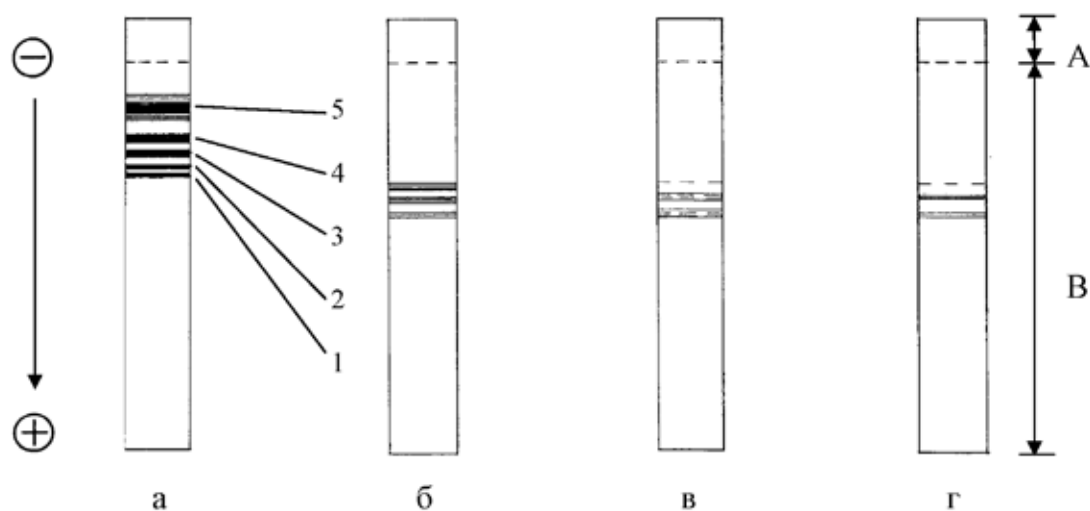


Рис. 2. Спектры МФ ГДГ иммобилизованного микроценоза (а), в водной среде биореактора на входе (б), в центре (в), на выходе из биореактора (г):

A – концентрирующий гель; B – разделяющий гель. 1–5 – зоны активности ГДГ

Установленное доказывает индукцию синтеза и транспорта в водную среду модифицированных форм фермента – субуномеров – трипептидов или дипептидов с сохраненной каталитической активностью [2]. Синтез и транслокация относительно низкомолекулярных форм ГДГ могут быть обоснованы накоплением в водной среде аммонийного азота.

Выводы

1. Установлена гетерогенная структура ГДГ в микроценозах биореакторов, включа-

ющей биологической очистки сточных вод НПЗ в биореакторах свидетельствуют о существовании тонких механизмов регуляции аминокислотного и белкового обменов в клетках и в водной среде на уровне субстратов, энергетического статуса и содержания кислорода в воде.

3. Установлено явное предпочтение реакции окислительного дезаминирования глутамата во вторичных отстойниках и в головных отсеках биореакторов. Переход сточных вод в аэрируемые участки сопровождается изменением со-

отношения активности МФ ГДГ в пользу восстановительного аминирования 2-оксоглутарата. Предпочтение реакции окислительного дезаминирования глутамата при относительном анаэробии подтверждено в сериях модельных экспериментов в условиях, лимитированных содержанием кислорода.

4. Данные о составе и соотношении активности МФ ГДГ иммобилизованных микроценозов могут быть использованы для организации контроля очистки сточных вод в биореакторах.

Список литературы

1. Гааль Э., Медьеша Г., Верекеи Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. – М.: Мир, 1982. – 448 с.
2. Генетика изоферментов / Л.И. Корочкин, О.Л. Серов, А.И. Пудовкин и др. – М.: Наука, 1977. – 275 с.
3. Никовская Г.Н., Гвоздяк П.И., Шамолина И.И. Иммобилизация деструктора алкилбензосульфата *Pseudomonas alcaligenes* TR на синтетических волокнах // Биотехнология. – 1990. – № 2. – С. 53–56.
4. Шаталаев И.Ф., Фомин И.В., Пурьгин П.П., Зарубин Ю.П. Структурные особенности и активность некоторых оксидоредуктаз в процессе очистки воды иммобилизованным ценозом // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. Специальный выпуск. – 2002. – С.150–155.
5. Унгурияну Д.В., Ионец И.Г. Анаэробная обработка сточных вод с помощью прикрепленной микрофлоры // Биотехнология. – 1990. – № 2. – С. 48–50.