

УДК 541.49 + 538. 6:663.14

СОРБЦИЯ КОБАЛЬТА(II) ДРОЖЖЕВЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ В СЛАБОМ ПОСТОЯННОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ

**Т.И. Смирнова¹, В.М. Никольский², О.М. Корпусов³, Ю.В. Червинец³,
Е.Н. Гординская³**

¹Тверская государственная сельскохозяйственная академия, г. Тверь

²Тверской государственной университет, г. Тверь

³Тверской государственной медицинский университет, г. Тверь

В лабораторных условиях при $t = 22 \pm 1$ °С и $pH = 6,0$ исследована сорбция дрожжевыми микроорганизмами свободных лигандов и комплексонатов кобальта (II) с иминодиантарной кислотой и этилендиаминтетрауксусной кислотой из водных растворов на фоне сорбции нехелатированных катионов кобальта (II). Оценено влияние слабого постоянного магнитного поля на уровень сорбции. Обнаружено, что кобальт(II) в составе комплексонатов сорбируется дрожжами значительно лучше нехелатированных катионов. Наведенное постоянное магнитное поле во всех вариантах опыта усиливает сорбцию.

Ключевые слова: комплексон, комплексонат, кобальт (II), постоянное магнитное поле, дрожжи, сорбция, гликолитическая активность.

DOI: 10.26456/vtchem7

Несбалансированность пищи человека и кормов животных по микроэлементному составу служит основой возникновения различных патологических отклонений. Дефицит кобальта, в микроколичествах необходимого всем живым организмам, представляет собой трудно диагностируемое состояние, сопровождающееся потерей аппетита, замедлением роста у детей, нарушением кроветворения, истощением организма и в тяжёлых случаях – летальным исходом [1]. В организме взрослого человека содержится около 1.2 мг кобальта и с пищей в норме поступает приблизительно 300 мкг/сутки [2]. Активная форма этого микроэлемента – комплекс с корриновым лигандом витамин B₁₂. Продуцентами этого соединения в природе служат лишь немногие микроорганизмы (клубеньковые, пропионовокислые и некоторые другие бактерии) [3; 4]. Биологические функции кобальта в живых организмах, за исключением роли в составе витамина B₁₂, известны в очень малой степени.

Кобальт, поглощаемый растениями из почвы, поступает в пищевое сырьё и корма животных, при этом некоторые почвенные микроорганизмы, и в том числе почвенные дрожжи (липомицеты), повышают актививность бактерий-азотфиксаторов – потребителей

соединений кобальта [5]. Липомицеты благоприятствуют процессу усвоения кобальта растениями и обогащению растительной продукции соединениями кобальта, что послужило дополнительным аргументом к использованию в качестве экспериментального одноклеточного организма доступных и безопасных для лабораторного опыта пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Интенсивность процессов метаболизма дрожжевых клеток зависит от проницаемости клеточных мембран. Их проницаемость существенно меняется в зависимости от физических и физико-химических факторов внешней среды [6]. Физиологические и биохимические процессы живой клетки могут как интенсифицироваться, так и подавляться под воздействием внешних физических факторов, в том числе магнитного поля [3; 6; 7]. Вопрос о возможности регуляции поглощения микроэлементов в составе различных микрочастиц живыми организмами представляет как теоретический, так и практический интерес. Поэтому целью представленного эксперимента было сравнение сорбции дрожжевыми клетками хелатированных и нехелатированных катионов Co^{2+} и изучение влияния слабого постоянного магнитного поля (ПМП) на интенсивность этого процесса.

Экспериментальная часть

В исследовании использованы прессованные хлебопекарные дрожжи ОАО «Комбинат пищевых продуктов» (Санкт-Петербург) [8]. Для эксперимента готовили рабочие растворы глюкозы «фармакопейной», уксусной кислоты «хч», 25%-ный раствор аммиака «чда», хлорида аммония «хч», индикаторов (мурексид и нитрозо-Р-соль), этилендиаминтетрауксусной кислоты «чда», иминодиянтарной кислоты, синтезированной авторами представленной статьи [9]. Стандартный 0.025 М раствор азотнокислой меди готовили растворением навески металлической меди «осч» в концентрированной азотной кислоте «хч» с последующим 25-кратным разбавлением до $C = 0,001$ моль/л. Поскольку интенсивность магнитных полей, наведённых антропогенными источниками, изменяется в пределах $3.0 \cdot 10^{-7} - 2.0$ Т, а максимальное значение горизонтальной составляющей естественного магнитного поля Земли составляет около $3.0 \cdot 10^{-5}$ Т [7], в эксперименте использовали двухполосный магнит типа Fe-B-Nd, создающий ПМП с промежуточной величиной индукции $B = 0,03$ Т и горизонтальной ориентацией силовых линий, изготовленный на кафедре магнетизма Тверского государственного университета [10].

Способность комплексонов кобальта(II) на основе иминодиянтарной кислоты (ИДЯК) и этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТУК) – Co-ИДЯК и Co-ЭДТУК сорбироваться дрожжевыми микроорганизмами в сравнении с сорбцией нехелатированных катионов кобальта(II) и свободных лигандов ИДЯК и ЭДТУК исследовали внесением на 30 мин при $t = 22 \pm 1$ °С 3.0 г прессованных дрожжей в колбу,

содержавшую 30 мл 0.001 М раствора сорбируемого вещества в ацетатном буфере (рН = 6.0). Влияние ПМП на сорбцию исследовали, помещая колбы со взвесью дрожжей в растворе соответствующего сорбтива на 30 мин в магнитное поле, создаваемое постоянным двухполосным магнитом. Затем дрожжи отделяли центрифугированием (5 мин при 4000g). Остаточное количество ИДЯК и ЭДТУК в центрифугатах определяли титриметрически с использованием в качестве титранта 0.001 М раствора $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ с индикатором мурексидом в аммонийном буфере при рН = 9.2. Остаточное количество Co^{2+} , Со-ИДЯК и Со-ЭДТУК определяли фотометрическим методом с нитрозо-Р-солью в качестве индикатора при $\lambda = 520$ нм (фотометр КФК 2МП «ЗОМЗ») [11]. Сорбцию исследуемых веществ рассчитывали по формуле [12]

$$\Gamma = (C_1 - C_2) \cdot V / m,$$

где Γ – сорбция в моль/г; C_1 – концентрация сорбтива в исходном растворе в ммоль/л; C_2 – остаточная концентрация сорбтива в растворе после сорбции в ммоль/л; m – масса сорбента (*S. cerevisiae*) в г. При пересчёте на $m = 1$ г сорбента получим $\Gamma = (C_1 - C_2) \cdot V = C_1 \cdot V - C_2 \cdot V = v_1 - v_2 = \Delta v$, где v_1 и v_2 – количества сорбентов в растворах до и после сорбции, Δv – количество сорбированного дрожжами вещества в ммоль.

Влияние сорбированных веществ на уровень физиологической активности дрожжевых микроорганизмов определяли по массе диоксида углерода, выделенного дрожжами за 120 мин при $t = 22 \pm 1$ °С. Для этого готовили три сферические плоскодонные колбы объёмом 250 мл, содержащие суспензию 2 г прессованных дрожжей в 20 мл дистиллированной воды и 5 мл ацетатного буферного раствора (рН 6.0). В две колбы вносили по $2 \cdot 10^{-3}$ моль воздействующего вещества в растворённом виде и доводили общий объём содержимого дистиллированной водой до 50 мл. В третью колбу доливали только дистиллированную воду до $V = 50$ мл. Колбы оставляли на 30 мин. Затем в каждую из колб добавляли по 2 г сухой глюкозы, плотно закрывали пробкой с затвором Мейсля и определяли массу с точностью до 0.001 г. Одну из колб, содержащих воздействующее вещество, помещали в магнитное поле. Через 2 ч массу колб определяли ещё раз. По разности масс определяли массу диоксида углерода, выделившегося при сбраживании глюкозы. Интенсивность брожения рассчитывали по стандартной методике [12].

Результаты и их обсуждение

Все взятые для опыта вещества (хелатированные и нехелатированные катионы кобальта(II), свободные лиганды) в слабокислой среде хорошо сорбируются дрожжевыми микроорганизмами. За 30 мин количество исследуемых веществ в растворах убывает более чем на 70 % (табл. 1).

Сорбция комплексонатов Со-ИДЯК и Со-ЭДТУК дрожжами протекает на 15-17 % полнее по сравнению с сорбцией нехелатированных ионов Co^{2+} . Сорбция нехелатированных ионов Co^{2+} в ПМП эффективнее на 3%. Разница в сорбции некоординированных ИДЯК и ЭДТУК вне ПМП составляет несколько процентов, причем наложение ПМП усиливает сорбцию ИДЯК на 4%, а сорбцию ЭДТУК – ослабляет на 1%.

Сорбированные вещества могут как оставаться на наружной стороне клеточной мембраны, так и проникать внутрь клетки, свидетельством чего может служить изменение скорости физиологических процессов и в первую очередь гликолитической активности дрожжей. Гликолитическая активность этих микроорганизмов определяется по массе выделенного диоксида углерода [12]. Судя по данным исследования, приведённым в табл. 2, все вещества, сорбированные дрожжами, проникают через клеточные мембраны внутрь клеток, оказывая влияние на скорость процессов гликолиза.

Сорбированные дрожжами вещества, за исключением ЭДТУК и Со-ЭДТУК, в разной степени интенсифицируют протекание гликолиза; в наибольшей – ИДЯК и Со-ИДЯК. Некоординированный лиганд ЭДТУК и комплексонат Со-ЭДТУК, расщепляющийся в дрожжевом организме на катион металла и анион лиганда, дезактивируют металлоферменты, угнетают процессы жизнедеятельности даже таких устойчивых к изменениям внешней среды организмов, как пекарские дрожжи. Существенное стимулирующее действие на обменные процессы дрожжевых микроорганизмов оказала экспозиция в ПМП. Масса CO_2 , образовавшегося при окислении глюкозы без воздействия химических факторов только за счёт наложения ПМП, увеличилась на 92.4%. По-видимому, слабое ПМП увеличивает общую проницаемость клеточных мембран дрожжевых организмов и в наибольшей степени для естественного субстрата – глюкозы, что вызывает увеличение скорости её окисления и массы выделяемого диоксида углерода.

Таблица 1

Сорбция комплексонов и комплексонатов кобальта (II)

S. cerevisiae за 30 мин при $t=22 \pm 1^\circ C$ и $pH = 6.0$;

масса дрожжей 0.3 г, $V_{p-ра} = 30$ мл ($P = 0.90$, $n = 5$)

№ п/п	Сорбтив	ПМП	Исходное количество сорбтива v_1 , мМ	Количество поглощённого сорбтива $\Delta v = v_1 - v_2$, мМ	Γ , мМ/г	$\Delta v / v_1 \cdot 100\%$
1	$CoSO_4$	-	0.300	0.211 ± 0.006	0.703	70.3
2	$CoSO_4$	+	0.300	0.220 ± 0.007	0.733	73.3
3	Со-ИДЯК	-	0.300	0.255 ± 0.001	0.850	85.0

4	Со-ИДЯК	+	0.300	0.256 ± 0.004	0.853	85.3
5	ИДЯК	-	0.300	0.269 ± 0.005	0.867	86.7
6	ИДЯК	+	0.300	0.272 ± 0.005	0.906	90.6
7	Со-ЭДТУК	-	0.300	0.263 ± 0.001	0.877	87.7
8	Со-ЭДТУК	+	0.300	0.281 ± 0.003	0.937	93.7
9	ЭДТУК	-	0.300	0.262 ± 0.006	0.873	87.3
10	ЭДТУК	+	0.300	0.258 ± 0.005	0.860	86.0

Т а б л и ц а 2

Масса диоксида углерода, выделенного *S. cerevisiae* в различных условиях культивирования за 2 ч при $t = 22 \pm 1$ °С, рН = 6.0; масса дрожжей 2.0 г, $V_{p-ра} = 50$ мл ($P = 0.90$, $n = 10$)

№ п/п	Воздействующие факторы		Диоксид углерода, мг
	вещество в среде культивирования	постоянное магнитное поле	
1	–	–	30.3 ± 2.7
2	–	+	58.3 ± 5.8
3	СоSO ₄	–	41.1 ± 6.0
4	СоSO ₄	+	41.8 ± 6.6
5	Со-ИДЯК	–	56.8 ± 6.2
6	Со-ИДЯК	+	52.3 ± 8.9
7	ИДЯК	–	53.7 ± 6.9
8	ИДЯК	+	56.5 ± 7.7
9	Со-ЭДТУК	–	39.2 ± 4.5
10	Со-ЭДТУК	+	41.0 ± 4.9
11	ЭДТУК	–	19.7 ± 3.6
12	ЭДТУК	+	21.2 ± 3.9

На основании проведённого исследования можно сделать выводы о том, что комплексоны кобальта (II) сорбируются дрожжевыми клетками лучше нехелатированных катионов Co^{2+} . Физиологическое действие комплексонов зависит от природы лиганда: иминодисукуцинат интенсифицирует, а этилендиаминтетраацетат подавляет процессы жизнедеятельности. Слабое ПМП индукцией 0.3 Т, являясь само по себе эффективным стимулятором физиологических процессов для пекарских дрожжей, усиливает проникновение как нехелатированных, так и хелатированных ионов кобальта (II) в клетки дрожжевых микроорганизмов.

Список литературы

1. Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных. СПб: Наука, 2008. 544 с.
2. Ершов Ю.А., Плетнева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. М.: Медицина, 1989. 272 с.
3. Хрычева А.И. Роль макро- и микроэлементов в обмене веществ дрожжей. М.: ЦНИИТЭИпищепрома, 1976. 16 с.
4. Сейдаметова Э.А., Шакирзянова М.Р., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г. // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40, № 6. С. 645–648.
5. Бабьева И.П., Горин С.Е. Почвенные дрожжи. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. 78 с.
6. Васюкова А.Т., Пучкова В.Ф. Современные технологии хлебопечения / 3-е изд. М.: Изд.-торговая корпорация «Дашков и К⁰», 2011. 224 с.
7. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Магнитные поля. Женева: Совместное издание Программы Организации Объединённых наций по окружающей среде, Всемирной организации здравоохранения и Международной ассоциации по радиационной защите. 1992. С. 12–13.
8. Межгосударственный стандарт. Дрожжи хлебопекарные прессованные ГОСТ 171-81.2008. М.: ИПК Издательство стандартов, 14 с.
9. Горелов И.П., Никольский В.М. // Журн. общ. хим. 1977. Т. 47, № 7. С. 1606–1610.
10. Никольский В.М., Смирнова Т.И., Пастушенков Ю.Г., Скоков К.П. // Вестн. ТвГУ. Сер. «Биология и экология». 2007. № 6. С.80–85.
11. Слесарев В.И. Химия. Основы химии живого. СПб.: Химиздат, 2000. 688 с.
12. Треппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004. 97 с.

COBALT (II) SORPTION IN YEAST MICROORGANISMS IN A WEAK PERMANENT MAGNETIC FIELD

**T.I. Smirnova¹, V.M. Nikolsky², O.M. Korpusov³, Yu.V. Chervinets³,
E.N. Gordinskaya³**

¹Tver State Agricultural Academy, Tver

²Tver State University, Tver

³Tver State Medical University, Tver

Under laboratory conditions, sorption by yeast microorganisms of free ligands and cobalt(II) complex ligands with iminodisuccinic acid and ethylenediaminetetraacetic acid from aqueous solutions against the background of sorption of free cobalt (II) cations was investigated at $t = 22 \pm 10$ °C and $pH = 6.0$. The influence of a weak constant magnetic field on the level of sorption is estimated. It was found that cobalt (II) in the composition of complexates is sorbed by yeast much better than uncheated

cations. The induced constant magnetic field in all variants of the experiment intensifies sorption.

Key words: *complexon, complexate, cobalt (II), constant magnetic field, yeast, sorption, glycolytic activity.*

Об авторах

СМИРНОВА Татьяна Ивановна – кандидат химических наук, доцент кафедры агрохимии и земледелия, Тверская государственная сельскохозяйственная академия, e-mail: tatsmi2013@mail.ru

НИКОЛЬСКИЙ Виктор Михайлович – доктор химических наук, профессор кафедры неорганической и аналитической химии, Тверской государственный университет, e-mail: p000797@tversu.ru

КОРПУСОВ Олег Михайлович – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры физики, математики и медицинской информатики, Тверской государственный медицинский университет (ТГМУ).

ЧЕРВИНЕЦ Юлия Вячеславовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии, ТГМУ.

ГОРДИНСКАЯ Елена Николаевна – старший преподаватель кафедры физики, математики и медицинской информатики, ТГМУ, e-mail: elena.gordin@mail.ru.

Поступила в редакцию 24 декабря 2017 г.