

Influence of firefighting fluorosynthetic film forming foam on soil microbocenosis

Y. O. Khanik*, G. I. Zvir*, N. M. Grynychyshyn**

*Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

**Lviv State University of Life Safety, Lviv, Ukraine

Article info

Received 10.09.2023

Received in revised form

15.09.2023

Accepted 28.09.2023

Ivan Franko National University
of Lviv, Lviv, Ukraine
Hrushevskogo Str, 4, Lviv,
79005, Ukraine.

E-mail:

yurahanuk43@gmail.com

Lviv State University of Life
Safety, Lviv, Ukraine
Kleparivska Str, 35, Lviv,
79007, Ukraine.

Khanik, Y. O., Zvir G. I., Grynychyshyn N. M. (2023). Influence of firefighting fluorosynthetic film forming foam on soil microbocenosis. Ecology and Noospherology, 34(2), 61–69. doi:10.15421/032310

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) are a group of over 5000 different chemicals that are used in a wide range of industrial applications and consumer products. Perfluoroalkyl substances have unique properties, such as high chemical stability and surface activity, which leads to their widespread use in medicine, science and everyday life. Aqueous film forming foams (AFFFs) are complex proprietary formulations that contain percent levels of PFASs as well as solvents and hydrocarbon surfactants which, when combined, afford AFFF the functionality required for its purpose. Firefighting foams, such as AFFF, are used primarily to control fires involving flammable liquids such as fuel and oil. AFFF suppresses fire by producing a film over the fuel/oil fire that effectively starves the fire of oxygen. The carbon-fluorine bond makes these compounds extremely strong and stable. This chemical and thermal stability allows these substances to persist in the environment without breaking down. While biological effects of single PFAS have been studied, the effects of PFAS-containing mixtures, such as AFFF, are unknown. The environmental effects of firefighting foam pollutants are generally considered in terms of their toxicity and their biodegradability. Firefighting foams have been found to have a negative impact on the environment (e.g. can remove oxygen from aquatic environment in turn killing aquatic fauna). The effect of PFAS on the microorganisms is not sufficiently studied. To date, there are few studies on the structure and dynamics of microbes in the presence of per- and polyfluoroalkyl substances. Moreover, the results are contradictory. In this regard, it is important to study the impact of various PFAS chemicals on the microorganisms. The article presents the results of the effect study of a fluorosynthetic film forming foam, the main component of which is perfluorinated organic acid, on soil microorganisms, namely ammonifiers, oligonitrophils and nitrogen-fixing microorganisms, yeasts and molds, actinobacteria, and cellulose-degrading bacteria. It was accomplished by plating a sample of the soil that has been serially diluted in water and enumeration of colony forming units (CFU) per gram of soil. The number of soil microorganisms was counted two weeks and three months after contamination with a fluorosynthetic film forming foam. The control sample was unpolluted soil. The sample of soil (1.0 g) was mixed and suspended with a 10 ml of water in a tube for isolation and enumeration of microorganisms. The sample was shaken vigorously to separate organisms from the colloidal material surrounding soil particles. Obtained suspension was serially diluted from 10^{-2} to 10^{-6} . Aliquot of each dilution was plated onto suitable agar medium. Meat-peptone agar, wort agar, starch-ammonia agar, ashby's agar and hutchinson's agar were used to isolate different groups of microorganisms from gray forest soil and to study the effect of film forming foam on them. The plates were incubated at 28 °C for 3–14 days and the results are expressed as CFU per gram of soil. Colonies of bacteria on meat-peptone agar and ashby's medium were counted after 3–4 days, yeasts and fungi on wort agar after 4–5 days and actinobacteria on starch-ammonia medium after 7–10 days. The number of colonies of cellulose-degrading microorganisms was counted after 14 days cultivation. Firefighting fluorosynthetic film forming foam led to the soil microbial community restructuring and a microbial diversity decrease. The study revealed a decrease the number of different groups of soil microorganisms two weeks after the pollution with the firefighting fluorosynthetic film forming foam, in particular ammonifiers by 2 times compared to the control, nitrogen-fixing microorganisms by 2.7 times, actinobacteria by 4.7 times, yeasts and fungi by 2.8 times. Three months after soil contamination with AFFF the number of nitrogen-

fixing microorganisms, actinobacteria, yeasts and fungi increased by 1.85, 1.2 and 2.6 times compared to the control respectively. The number of ammonifiers and cellulose-degrading microorganisms decreased by 1.7 and 5.0 times compared to the control respectively.

Keywords: aqueous film forming foam (AFFF); per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs); soil microbocenosis

Вплив протипожежного флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача на мікробоценоз ґрунту

Ю. О. Ханик*, Г. І. Звір*, Н. М. Гринчишин**

**Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна*

***Львівський державний університет безпеки життєдіяльності, Львів, Україна*

Пер- та поліфлуоралкільні речовини (PFAS) – це група з понад 5000 різних хімічних речовин, які широко використовують у промисловості та для виробництва споживчих товарів. Перфлуоралкільні речовини мають унікальні властивості: високу хімічну стабільність і поверхневу активність, що дає змогу широкого використання їх у медицині, науці та побуті. Водні плівкоутворювальні піноутворювачі (AFFF) – це складні комплексні сполуки, які містять певний відсоток PFAS, а також розчинники та вуглеводневі поверхнево-активні речовини. Протипожежні піни типу AFFF використовують в основному для гасіння пожеж, спричинених горінням легкозаймистих рідин, таких як пальне та масла. AFFF придушує вогонь, утворюючи на поверхні рідини півку, яка має охолоджувальний та ізолювальний ефект. Зв'язок карбон-флуор забезпечує надзвичайну міцність і хімічну стабільність цих сполук у навколишньому середовищі. Плівкоутворювальні протипожежні піни негативно впливають на довкілля, знижуючи поверхневий натяг води, перешкоджаючи газообміну, що спричинює масову загибель водних організмів. На сьогоднішній день результати дослідження впливу PFAS на склад та різноманіття мікроорганізмів нечисленні та доволі суперечливі. У зв'язку з цим актуальним є дослідження впливу на мікроорганізми сполук, що містять пер- та поліфлуоралкільні речовини. У статті наведено результати дослідження впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача, основним компонентом якого є перфлуорокарбонова кислота, на мікроорганізми ґрунту (амоніфікувальні, олігонітрофільні, азотофіксувальні, дріжджі та цвілеві гриби, актинобактерії та целюлозоруйнівальні мікроорганізми). Зразки сірого лісового ґрунту відбирали через два тижні та через три місяці після внесення у нього піноутворювача. Для кількісного підрахунку мікроорганізмів використовували м'ясо-пептонний агар, сусло-агар, крохмально-аміачне середовище, агар Гетчинсона та агаризоване середовище Ешбі. Контролем був ґрунт сірий лісовий, у який AFFF не вносили. Зразок ґрунту (1,0 г) змішували з 10 мл води та ресуспендували для виділення та підрахунку мікроорганізмів. З отриманої суспензії готували серійні розведення (від 10⁻² до 10⁻⁶). Аліквоту кожного розведення висівали на відповідне агаризоване середовище. Чашки Петрі інкубували за температури 28 °С протягом 3–14 днів. Кількість колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 г ґрунту на м'ясо-пептонному агарі та середовищі Ешбі підраховували через 3–4 доби, грибів на сусло-агарі – через 4–5 днів, актинобактерій на крохмально-аміачному середовищі – через 7–10 днів. Кількість колоній мікроорганізмів, що розкладають целюлозу, підраховували після 14 днів культивування. Протипожежний плівкоутворювальний піноутворювач призводить до перебудови мікробного комплексу і зниження різноманіття мікроорганізмів ґрунту. Дослідження виявили зменшення чисельності різних груп мікроорганізмів у ґрунті через два тижні після забруднення його протипожежним флуоросинтетичним плівкоутворювальним піноутворювачем, зокрема амоніфікаторів удвічі порівняно з контролем, азотофіксувальних мікроорганізмів – у 2,7 разу, актинобактерій – у 4,7 разу, дріжджів та цвілевих грибів – у 2,8 разу. Через 3 місяці після забруднення ґрунту AFFF кількість азотофіксувальних мікроорганізмів, актинобактерій, дріжджів та цвілевих грибів зросла відповідно у 1,85, 1,2 та 2,6 разу порівняно з контролем. Кількість амоніфікаторів та целюлозоруйнівальних мікроорганізмів зменшилась порівняно з контролем у 1,7 та 5,0 разів відповідно.

Ключові слова: водний плівкоутворювальний піноутворювач (AFFF); пер- та поліфлуоралкільні речовини (PFASs); мікробоценоз ґрунту

Вступ

Щорічно у всьому світі виникають природні та антропогенні пожежі, які призводять до значних матеріальних збитків та людських втрат. Пожежі знищують тисячі гектарів посівів, родючих шарів ґрунту, лісів, гине флора і фауна; порушується планова робота сільського господарства та використання лісових ресурсів. У сучасному природокористуванні пожежі, які виникають на певній території внаслідок засух та інших клімато-географічних умов, вважають важливим локально-катастрофічним чинником, що призводить до трансформації природних екосистем. Унаслідок пожеж в атмосферу потрапляють десятків тисяч тонн токсичних продуктів горіння, серед яких оксид та діоксид карбону, сірчистий ангідрид, фосген тощо (Bespalov, Moshkovskiy, 2005).

Залежно від місця пожежі, умов навколишнього середовища, типу горючої речовини (деревина,

нафтопродукти, полярні або неполярні рідини тощо) гасіння водою може бути неефективним або неможливим. Пожежі на хімічних підприємствах, нафтобазах, об'єктах промисловості неможливо загасити із застосуванням лише води, для цього необхідні спеціальні вогнегасні засоби, які обмежують доступ кисню до продуктів горіння, адже під час гасіння водою нафтопродукти та інші горючі рідини спливають і продовжують горіти на поверхні (Vaskovets, Bondarenko, 2020). Для усунення первинних осередків займання використовують повітряно-пінні вогнегасники, для придушення та ліквідації пожеж – автоматичні установки пожежогасіння повітряно-механічною піною.

Технологія пінного пожежогасіння є одним з найефективніших методів гасіння та локалізації пожеж, особливо на початкових стадіях горіння. Розроблено чимало протипожежних пін, які застосовують для локалізації та ліквідації більшості видів пожеж. Основним компонентом піноутворювачів є поверхнево-активні

речовини (ПАР), які знижують поверхневий натяг води на межі з повітрям. Для отримання протипожежної піни найчастіше використовують речовини, синтезовані на основі білків, вуглеводнів або флуорувуглеводнів. В Україні застосовують піноутворювачі загального призначення для гасіння пожеж твердих матеріалів та продуктів нафтової промисловості і спеціального (цільового) призначення для швидкого усунення пожеж легкозаймистих речовин чи за особливих умов (з морською водою, за низьких температур тощо).

Флуоросинтетичні плівкоутворювальні піноутворювачі спеціального призначення типу AFFF (aqueous film forming foam – водні плівкоутворювальні піноутворювачі) використовують головню для гасіння пожеж, спричинених займанням неполярних (водонерозчинних) легкозаймистих рідин (нафти, бензину, гасу, мазуту, масел, бензолу, циклогексану тощо) та полярних (водорозчинних) горючих рідин (етилового, метилового та інших спиртів, а також органічних кислот, альдегідів, кетонів, полярних розчинників для лакофарбової промисловості тощо) (Sheinson et al., 2002; Vaskovets, Bondarenko, 2020). Поверхнево-активні речовини, що входять до складу такої піни, представлені переважно пер- та поліфлуоралкільними речовинами (PFAS). Застосування їх у складі піноутворювачів підвищило вогнегасну ефективність завдяки утворенню стійких ізолювальних плівок на поверхні нафтопродуктів. Піни на основі AFFF є інертними до впливу вуглеводнів у процесі піднімання їх на поверхню нафтопродукту (у разі “підшарового” гасіння). Плівкоутворювальна піна типу AFFF може швидко поширюватися на поверхні легкозаймистих рідин з утворенням плівки, яка стає фізичним бар’єром і перешкоджає переносу тепла та маси, виявляючи чудовий охолоджувальний та ізолювальний ефект під час горіння вуглеводнів. Тому протягом останніх п’яти десятиліть піноутворювачі спеціального призначення типу AFFF відіграють важливу роль у гасінні пожеж у військових і цивільних аеропортах, у навчаннях з аварійних ситуацій та вогневої підготовки, реагуванні на пожежі та розливи палива.

Крім пожежогасіння, перфлуоралкільні речовини завдяки високій хімічній стійкості та поверхневій активності застосовують у промисловості, медицині, науці та побуті. Їх використовують як гідроізоляційні засоби, антипригарне покриття для посуду, волого- і плямостійке покриття для текстилю, у виробництві холодоагентів, упаковок для харчових продуктів, поверхнево-активних речовин, фарб для текстильної промисловості тощо (Ross, Hurst, 2019; Sun et al., 2023). Широке використання та хімічна стабільність зумовлюють накопичення цих сполук у навколишньому середовищі. У доквіллі PFAS можуть потрапляти різними шляхами: у повітря – з викидами заводів з виробництва флуорополімерів, у ґрунт та воду – у районах нафтобаз, військових баз, аеропортів та інших місць, де зберігають нафтопродукти та пальне, а також унаслідок застосування флуоросинтетичних протипожежних пін (Galloway et al., 2020).

Однією з головних проблем застосування PFAS є те, що вони дуже повільно руйнуються в навколишньому середовищі. Вони не гідролізуються, не засвоюються водними чи ґрунтовими мікроорганізмами, можуть біоакмулюватися та мігрувати трофічними ланцюгами. Багато PFAS розчиняються у воді, тому можуть переноситися поверхневими водами – струмками та річками, підземними водами, потрапляючи врешті у питну воду. Оскільки вони не розкладаються під час очищення стічних вод, то в кінцевому підсумку накопичуються у навколишньому середовищі. У разі потрапляння у водні екосистеми токсичний вплив піноутворювачів насамперед зумовлюється ПАР, що входять до їхнього складу. Поверхнево-активні речовини знижують поверхневий натяг води, таким чином перешкоджаючи газообміну та зменшуючи вміст кисню, що спричинює масову загибель

водних організмів та порушує функціонування екосистеми. Тести на токсичність проводять на різних організмах, які є ключовими ланками харчового ланцюга, зокрема, у водному середовищі на водоростях (*Desmodesmus subspicatus*), рибах (*Danio rerio*), ракоподібних (*Daphnia magna*), найпростіших (Colville, McCarton, 2003).

На сьогоднішній день залишається малодослідженим вплив PFAS на мікроорганізми. Результати досліджень, спрямовані на вивчення впливу перфлуоралкільних речовин на мікроорганізми ґрунту і води, доволі суперечливі. В одних випадках встановлено, що із збільшенням концентрації перфлуорокарбонвої кислоти зростала кількість мікроорганізмів та їхнє різноманіття, або ж зростала кількість певних груп мікроорганізмів, але зменшувалась їхня різноманітність (Li et al., 2017; Sun et al., 2016). В інших дослідженнях за впливу перфлуорокарбонвоих кислот видове різноманіття та кількість мікроорганізмів ґрунту зменшувались (Bao et al., 2018; Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2017).

Тому метою роботи було дослідження впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача для гасіння пожеж типу AFFF на групи ґрунтових мікроорганізмів. Зразок піноутворювача наданий працівниками кафедри екологічної безпеки Львівського державного університету безпеки життєдіяльності, які проводять тестування щодо токсикологічних властивостей і забруднювального впливу піноутворювачів вітчизняного виробництва на навколишнє середовище.

Матеріали та методи досліджень

Об’єктом дослідження був вплив флуоросинтетичного протипожежного плівкоутворювального піноутворювача типу AFFF на різні групи мікроорганізмів сірого лісового ґрунту. З цією метою ґрунт забруднювали піноутворювачем у робочій (3 %) концентрації. Розчин AFFF готували з вихідного концентрату, розводячи його водою.

Зразки ґрунту відбирали стерильним ножом з глибини 5 см, вносили у скляний посуд, який закривали корком. Контрольний зразок (ґрунт, у який не вносили піноутворювача) і ґрунт, забруднений флуоросинтетичним протипожежним піноутворювачем, просіювали крізь сито для видалення каміння та інших грубих часток, відважували 1 г. Наважку поміщали у стерильну фарфорову ступку або чашку, упродовж 5–7 хвилин розтирали стерильним гумовим товчачем до пастоподібного стану, зволожуючи водопровідною водою. Після отримання однорідної маси суспензію багаторазовими змивами переносили в порожню пробірку, доводячи загальний об’єм до 10 мл. З отриманої ґрунтової суспензії готували послідовні десятикратні розведення, для посіву на чашки Петрі використовували розведення 10^{-4} , 10^{-5} та 10^{-6} . Дослідження мікробіоти ґрунту проводили через два тижні та три місяці після забруднення піноутворювачем, оскільки під час оцінювання токсичності досліджуваного препарату слід урахувати довгострокову біотрансформацію протипожежної піни, а також участь різних груп мікроорганізмів у певних етапах самоочищення ґрунту.

Для виділення з ґрунту різних груп мікроорганізмів та підрахунку їхньої чисельності використовували елективні середовища. Амоніфікувальні бактерії виділяли на м’ясо-пептонному агарі (МПА) додаванням до м’ясо-пептонного бульйону 15–20 г агару. Середовище нагрівали до розчинення агару, рН середовища доводили до слаболужного. Для виділення з ґрунту дріжджів та цвілевих грибів використовували сусло-агар. Для його приготування солодове сусло розводили вдвічі, для отримання агаризованого середовища додавали 2–2,5 % агару. Актинобактерії виділяли на крохмально-аміачному середовищі. Для виділення олігонітрофільних та азотофіксуювальних мікроорганізмів використовували

середовище Ешбі. Целюлозоруйнівальні мікроорганізми виділяли на агаризованому середовищі Гетчинсона (Gudz et al., 2014). Готові живильні середовища розливали по 15–20 мл у чашки Петрі, залишали на горизонтальній поверхні до повного застигання. На поверхню середовища вносили по 0,1 мл розведеної ґрунтової суспензії (розведення 10^{-4} – 10^{-6}), яку рівномірно розтирали шпателем Дригальського. Засіяні чашки культивували у термостаті за температури 28 °С. Підрахунок колоній мікроорганізмів на МПА та середовищі Ешбі проводили через 3–4 доби, грибів на сусл-агарі – через 4–5, актинобактерій на крохмально-аміачному середовищі – через 7–10 діб; кількість колоній целюлозоруйнівальних мікроорганізмів підраховували через 14 діб (Gudz et al., 2014). Колонії, що виростили на живильних середовищах, розглядали у світловому мікроскопі МБС-9 за збільшення $\times 16$, $\times 32$, $\times 56$. Колір оцінювали порівнянням із табличними кольорами системи RAL.

Після підрахунку колоній на всіх чашках визначали середню кількість колоній та перераховували на 1 г ґрунту за формулою: $K = a \times n \times 10 / 0,1 \times m$, де K – кількість колонієутворювальних одиниць в 1 г ґрунту; a – середня кількість колоній на чашці; n – розведення, з якого зроблено посів; 10 – об'єм вихідної суспензії, мл; $0,1$ – об'єм розведеної суспензії, мл; m – маса ґрунту, взятого для аналізу, г (Gudz et al., 2014).

Одночасно із взяттям наважки сірого лісового ґрунту для посіву на елективні середовища з середньої проби відбирали 5 г ґрунту для визначення його вологості. Наважку ґрунту поміщали в попередньо зважений скляний бюкс та висушували до постійної маси за температури 105 °С. Бюкс з висушеним ґрунтом зважували, вологість обчислювали за формулою: $B = (a-b) \times 100 / (a-c)$, де B – вологість ґрунту, %; a – маса бюкса з вологим ґрунтом, г; b – маса бюкса з сухим ґрунтом, г; c – маса порожнього бюкса, г (Gudz et al., 2014).

Усі дослідження виконували у трьох повторностях. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програм Microsoft Excel 2003, Origin Pro 7,0. Вираховували основні статистичні показники за безпосередніми даними (середнє арифметичне – M ; стандартна похибка середнього арифметичного – m).

Результати та їх обговорення

Мікробіоценоз ґрунту складає велика кількість угруповань мікроорганізмів, які здійснюють трансформацію органічних та мінеральних речовин. Між ними формуються складні взаємовідносини, які дають змогу мікробним співтовариствам реагувати на зовнішні чинники, серед яких найважливіше значення має хімічне забруднення ґрунту. Мікробіоценоз ґрунту першим реагує на ксенобіотики, наслідком чого може бути порушення природних процесів самоочищення аж до порушення його структури та зниження родючості. Адаптуючись до нових умов існування, мікроорганізми гинуть або ж формують стійкість до забруднювачів.

Різному ступеню забрудненості ґрунту ксенобіотиками, органічними полотноантами відповідає певна мікробіота та мікрофауна. Здатність мікроорганізмів виживати за несприятливих умов, швидко відновлюватися зумовлює стабільність ґрунту як біологічної системи (Mazur et al., 2018).

Вплив пер- та поліфлуоралкільних речовин на ґрунтові мікроорганізми привертає велику увагу, оскільки активність, біорізноманіття та склад мікроорганізмів відіграють вирішальну роль у підтриманні багатьох біогеохімічних процесів або вказують на властивості ґрунту. Дослідженнями (Wao et al., 2018; Qiao et al., 2018) встановлено, що тривалий вплив PFAS призводить до значного зменшення різноманіття мікроорганізмів ґрунту та зростання у ньому чисельності стійких до PFAS

бактерій, що належать до *Proteobacteria*, *Acidobacteria* та *Bacteroidetes*.

Поверхнево-активні речовини, пер- та поліфлуоралкільні сполуки, що входять до складу протипожежних пін, є токсичними для організмів ґрунту: підвищена концентрація цих речовин впливає на швидкість самоочищення ґрунту, може спричинити значний негативний вплив на різні групи мікроорганізмів як у найближчій, так і у віддаленій перспективі. Тому досліджували чисельність мікроорганізмів у КУО/г сірого лісового ґрунту через два тижні та через три місяці після забруднення його флуоросинтетичним плівкоутворювальним піноутворювачем типу AFFF. Контролем був ґрунт, незабруднений піноутворювачем.

Чисельність амоніфікувальних бактерій, які здійснюють мінералізацію білків у процесах гниття органічних решток і відіграють важливу роль у процесах самоочищення, у забрудненому ґрунті поступово знижується відповідно до зниження концентрації органічних сполук. У ґрунті, забрудненому флуоросинтетичним плівкоутворювальним піноутворювачем, кількість амоніфікувальних бактерій через два тижні після забруднення була в 2,0 рази нижчою, ніж у контролі, і через три місяці після забруднення ґрунту залишалася в 1,7 рази нижчою порівняно з контролем (рис. 1).

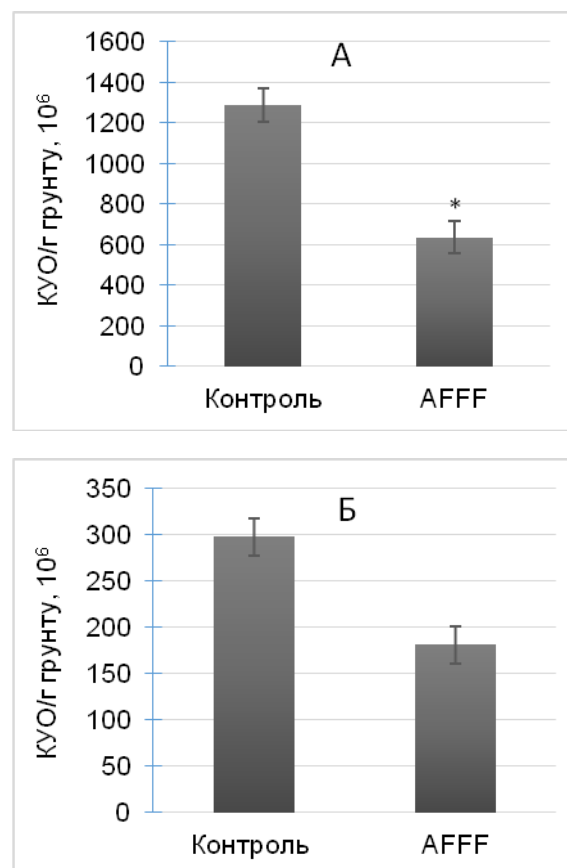


Рис. 1. Чисельність амоніфікувальних бактерій у сірому лісовому ґрунті за впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача типу AFFF (А – через два тижні після забруднення; Б – через три місяці після забруднення) (* – $p \leq 0,05$)

Як відомо, флуор є найбільш реакційно здатним серед неметалів. Його сполуки широко поширені в ґрунтах, тому можуть впливати на структуру та функціонування організмів ґрунту. Іони флуору порушують функціонування АТФ-аз F-типу, посилюючи проникність мембрани клітин для протонів, індукуючи підкислення цитоплазми та інгібування гліколітичних ферментів. Сполуки флуору навіть за низьких концентрацій здатні впливати на ферменти, що беруть участь у метаболізмі нітрогеновмісних

органічних сполук (уреазу, аспарагіназу, глутаміназу, аргіназу, амідазу) (Gryshko, 2010; Zhang et al., 2019).

Серед ізолятів мікроорганізмів, виділених із забрудненого піноутворювачем ґрунту, переважали колонії білого та оранжевого кольору, розміром від 1 до 14 мм, з гладкою або зморшкуватою поверхнею, плоским профілем, гладким або хвилястим краєм; рідше спостерігали колонії з повзучим ростом (рис. 2). Отже, флуоросинтетичний плівкоутворювальний піноутворювач типу AFFF чинить тривалий негативний вплив на чисельність та різноманіття амоніфікувальних бактерій.

Азотофіксувальні мікроорганізми є невід'ємною складовою мікробних угруповань, чутливими до впливу

екзогенних чинників антропогенного походження. Олігонітрофільні мікроорганізми беруть участь у трансформації залишкової кількості органічних решток у доквілі. Вплив флуоросинтетичного піноутворювача на олігонітрофільні та азотофіксувальні мікроорганізми ґрунту досліджували, висіваючи десятикратні розведення ґрунтової суспензії на агаризоване середовище Ешбі. Установлено, що кількість олігонітрофілів та діазотрофів у ґрунті через два тижні після забруднення AFFF зменшилася у 2,7 разу порівняно з контролем. Через три місяці після забруднення спостерігали збільшення кількості азотофіксувальних та олігонітрофільних бактерій у 1,85 разу порівняно з ґрунтом без піноутворювача (рис. 3).

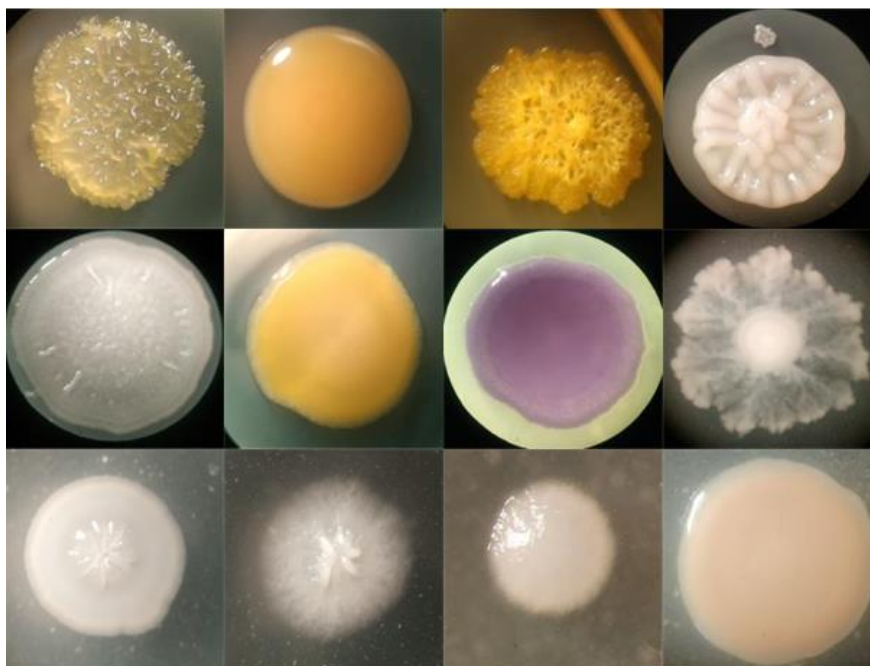


Рис. 2. Ізоляти амоніфікувальних бактерій, вирощені на МПА

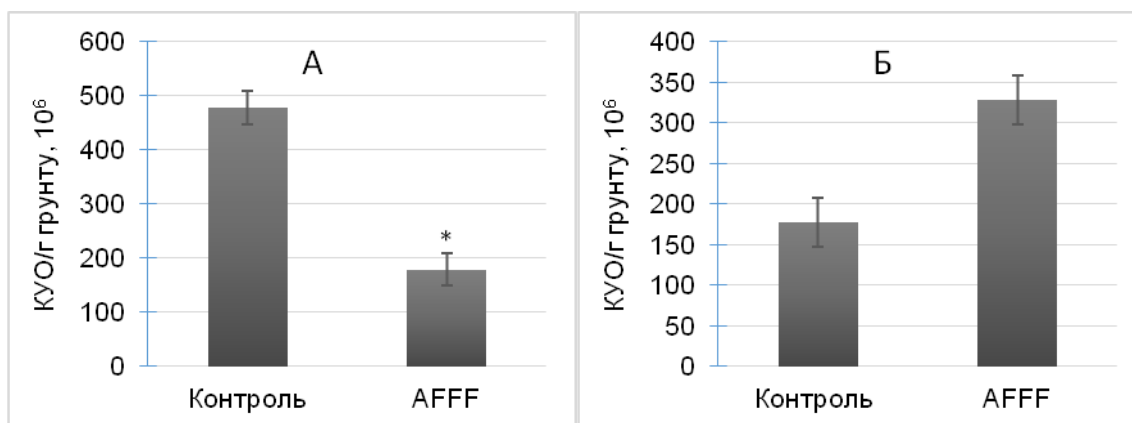


Рис. 3. Чисельність олігонітрофільних та азотофіксувальних мікроорганізмів у сірому лісовому ґрунті за впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача типу AFFF (А – через два тижні після забруднення; Б – через три місяці після забруднення) (* – $p < 0,05$)

Вплив флуоропохідних на олігонітрофільні та азотофіксувальні мікроорганізми залежить від типу ґрунту, рослинності, концентрації та структури сполуки, тривалості її впливу на ґрунт тощо. Méndez V. та співавтори виявили збільшення чисельності олігонітрофільних, споротвірних і денітрифікувальних бактерій у забрудненому флуором ґрунті (Méndez et al., 2022). У дослідженнях впливу перфлуорованих сполук на урожай сої виявлено підвищену експресію гену *nifH* у бульбочках сої за впливу PFAS у концентрації 100 мкг/кг, що сприяло збільшенню кількості олігонітрофілів та

діазотрофів після певної адаптації до забруднювача (Jiang et al, 2022).

Колонії, що виростили на середовищі Ешбі зі забрудненого AFFF ґрунту, не відрізнялися різноманіттям: серед них домінували молочно-мутні або безбарвні, розміром від 1 до 4–5 мм, з гладкою або нитчастюю поверхнею, плоским або каплеподібним профілем та гладким краєм (рис. 4).

За впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача спостерігали зменшення кількості дріжджів та цвілевих грибів у 2,8 разу порівняно з контролем через два тижні після забруднення ґрунту.

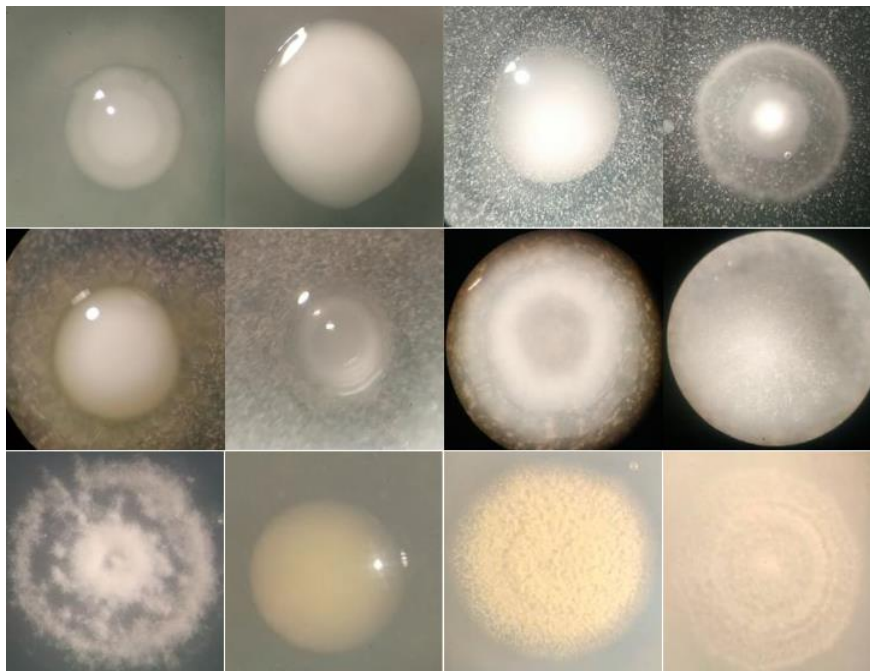


Рис. 4. Ізоляти олігонітрофільних та азотофіксувальних мікроорганізмів, вирощені на середовищі Ешбі

Через три місяці після забруднення кількість дріжджів та цвілевих грибів зростає у 2,6 разу порівняно з контрольним зразком (рис. 5). Мікроміцети є важливими консортами

грунту, впливають на його родючість і беруть активну участь у процесах, пов'язаних із перетворенням органічних речовин, особливо таких, що важко піддаються біодеградації.

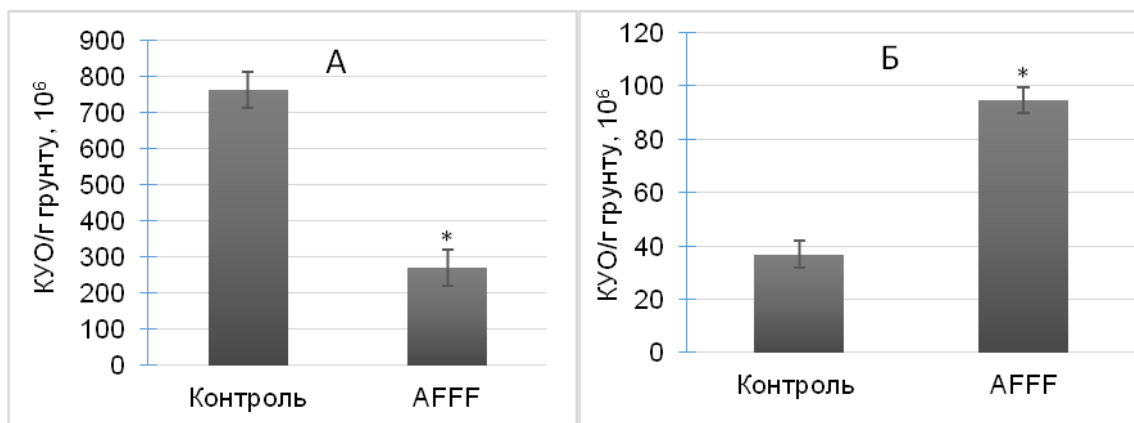


Рис. 5. Чисельність дріжджів та цвілевих грибів у сірому лісовому ґрунті за впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача типу AFFF

(А – через два тижні після забруднення; Б – через три місяці після забруднення) (* – $p < 0,05$)

На думку деяких дослідників, чисельність мікроскопічних грибів меншою мірою змінюється за впливу поліфлуоралкільних сполук (PFHxS) порівняно з бактеріями (Samarasinghe et al., 2023). У забрудненому ґрунті вони присутні зазвичай у вигляді спор. Деякі гриби здатні до біодеградації перфлуорованих органічних речовин (наприклад, тих, що спричиняють гниття деревини, як *Phanerochaete chrysosporium*) (Shahsavari et al., 2021).

На прикладі дріжджів та цвілевих грибів можна спостерігати здатність мікроорганізмів виживати за несприятливих умов і порівняно швидко відновлюватися. Досліджуваний піноутворювач не чинив суттєвого впливу на їхнє різноманіття: на середовищі суло-агар росли колонії круглої форми розміром від 3 до 9 мм, здебільшого білого кольору, поверхня гладка, зморшкувата або нитчаста, профіль колоній найчастіше плоский або краплеподібний, край гладкий або хвилястий (рис. 6).

Підрахунок чисельності актинобактерій через два тижні після забруднення показав, що кількість їх у ґрунті знизилась у 4,7 разу порівняно з контрольним зразком. Відомо, що актинобактерії беруть участь у мінералізації органічної речовини, недоступної для інших мікроорганізмів, у постачанні рослинам елементів живлення, тому їхня роль у самоочищенні ґрунту від ксенобіотиків є важливою. Через три місяці після забруднення ґрунту піноутворювачем кількість актинобактерій зростає в 1,2 разу порівняно з контролем (рис. 7).

Ізоляти, виділені із забрудненого AFFF ґрунту на крохмально-аміачному середовищі, були круглої форми, білого, червоного або жовтого кольору, розміром від 1 до 5 мм, поверхня колоній переважно нитчаста або гладка, профіль плоский, кратероподібний або краплеподібний, край гладкий (рис. 8).



Рис. 6. Ізоляти дріжджів та грибів, вирощені на сусло-агарі

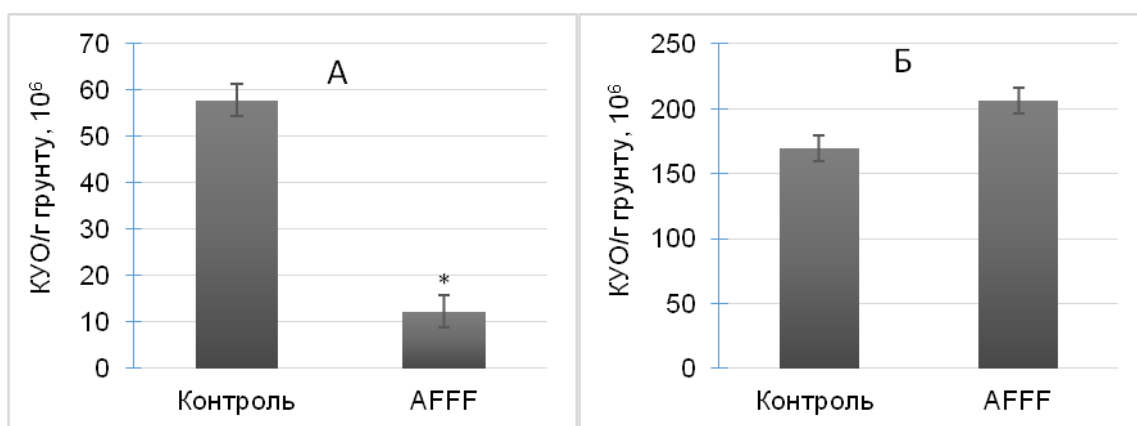


Рис. 7. Чисельність актинобактерій у сірому лісовому ґрунті за впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача типу AFFF (А – через два тижні після забруднення; Б – через три місяці після забруднення) (* – $p \leq 0,05$)

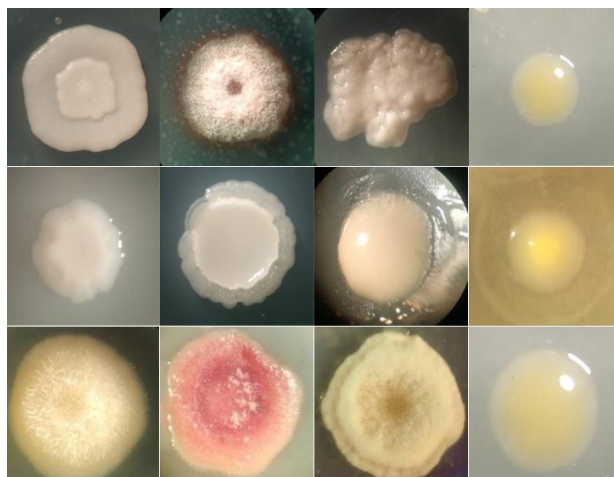


Рис. 8. Ізоляти актинобактерій, вирощені на крохмально-аміачному середовищі

Для виділення з ґрунту целюлозоруйнівальних мікроорганізмів використовували агаризоване середовище Гетчинсона, єдиним джерелом карбону у якому був фільтрувальний папір, який поміщали на поверхню чашки Петрі після засіву ґрунтової суспензії. Кількість цих мікроорганізмів у ґрунті через два тижні після забруднення його піноутворювачем типу AFFF зросла в 1,5 разу. Через три місяці після забруднення піноутворювачем кількість целюлозоруйнівальних мікроорганізмів знизилась у 5 разів порівняно з контролем (рис. 9).

Целюлозоруйнівальні мікроорганізми є редуцентами рослинних полімерів, тому відіграють важливу роль у біодеструкції органічної речовини ґрунтів, переводячи їх у доступні для автотрофів елементи живлення. У зв'язку з

цим порушення структури ґрунтових мікробоценозів може супроводжуватися негативними екологічними наслідками на рівні екосистем. З іншого боку, кількісні характеристики мікробних асоціацій можна використовувати для біоіндикації стану довкілля.

Целюлозоруйнівальні мікроорганізми росли повільно, утворюючи на поверхні середовища поодинокі колонії схожої морфології: круглої форми, сірого кольору, розміром 2–3 мм, з нерівною поверхнею, профіль плоский або горбкуватий (рис. 10).

Токсичний вплив протипожежних пін зазвичай проявляється у перший тиждень після потрапляння у довкілля. Тому зменшення чисельності та різноманіття деяких груп мікроорганізмів ґрунту у перші два тижні

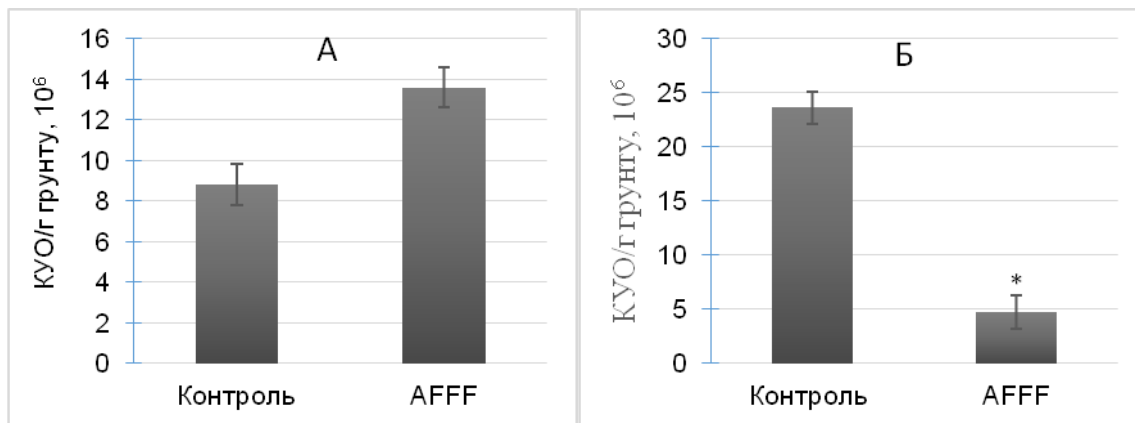


Рис. 9. Чисельність целюлозоруйнувальних мікроорганізмів у сірому лісовому ґрунті за впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача типу AFFF (А – через два тижні після забруднення; Б – через три місяці після забруднення) (* – $p \leq 0,05$)



Рис. 10. Ізоляти целюлозоруйнувальних мікроорганізмів, вирощені на середовищі Гетчинсона

після забруднення плівкоутворювальним піноутворювачем типу AFFF можна розглядати як наслідок прямого впливу флуоромісного плівкоутворювального піноутворювача насамперед на мікроорганізми, що здійснюють процес самоочищення ґрунту та беруть участь у колообігу речовин у природі. Подальші зміни мікробного комплексу зумовлені чутливістю/стійкістю мікроорганізмів до дії AFFF, а також можливістю біодеградації піноутворювача за участю деяких бактерій та грибів, виділення та ідентифікація яких має важливе екологічне значення та перспективну спрямованість.

Висновки

Противопожешний плівкоутворювальний піноутворювач типу AFFF призводить до перебудови мікробного комплексу і зниження різноманіття мікроорганізмів ґрунту. Враховуючи те, що флуоросинтетичні піни стійкі до біодеградації, а присутність їх у ґрунті є довготривалою, залишки цих сполук у ґрунті та воді слід розглядати як постійний фактор впливу на мікробіоценоз ґрунту у місцях їхнього застосування. Нами встановлено, що чисельність та різноманіття мікроорганізмів, які беруть участь у біодеградації органічних решток, упродовж перших двох тижнів знижуються за впливу піноутворювача. Через три місяці після забруднення ґрунту протипожежною піною чисельність основних груп ґрунтових мікроорганізмів зростає, проте домінують у ньому олігонітрофільні та азотофіксувальні мікроорганізми. Найменш чутливими до токсичного впливу флуоромісного плівкоутворювального піноутворювача виявилися мікроміцети, азотофіксувальні та олігонітрофільні мікроорганізми. Зниження чисельності амоніфікувальних бактерій у сірому лісовому ґрунті за впливу флуоросинтетичного плівкоутворювального піноутворювача типу AFFF є довготривалим, що підтверджує припущення про перебудову мікробного комплексу за впливу протипожежної піни. Компоненти протипожежної піни, що містять PFAS, можуть чинити токсичний вплив на функції

мікроорганізмів руйнуванням мембрани, пошкодженням ДНК та індукцією оксидативного стресу. Тому одним з основних критеріїв біотестування у системі екологічного моніторингу довкілля має бути дослідження структури мікробних угруповань, які визначають інтенсивність перебігу біологічних процесів у ґрунтах.

References

- Bao, Y., Li, B., Xie, S., Huang, J. (2018). Vertical profiles of microbial communities in perfluoroalkyl substance-contaminated soils. *Annals of Microbiology*, 68(6), 399–408.
- Bespalov, A. V., Moshkovskiy, M. S., 2005. Ekolohichni problemy zabezpechennia pozhezhnoi bezpeky u Zbroinykh Sylakh Ukrainy [Environmental problems of ensuring fire safety in the Armed Forces of Ukraine]. *Systemy obrobky informatsii*, 7(47), 28–33 (in Ukrainian).
- Colville, S., McCarron, N. (2003). Environmental issues associated with defence use of aqueous film forming foam (AFFF). Environmental Stewardship, Environment, Heritage and Risk Branch.
- Galloway, J. E., Moreno, A. V., Lindstrom, A. B., Strynar, M. J., Newton, S., May, A. A., Weavers, L. K. (2020). Evidence of air dispersion: HFPO-DA and PFOA in Ohio and West Virginia surface water and soil near a fluoropolymer production facility. *Environmental Science & Technology*, 54(12), 7175–7184.
- Gryshko, V. (2010). Activity of some enzymes, participating in nitrogen compounds transformation in chernozem, polluted by fluorine compounds. *Acta Agraria Debreceniensis*, (38), 99–104.
- Gudz, S. P., Hnatysh, S. O., Yavorska, G. V., Bilinska, I. S., Borsukevych, B. M. (2014). *Praktykum z mikrobiologii: pidruchnyk* [Workshop on microbiology: textbook]. Lviv. Nac. Univ. imeni Ivana Franka. Ser. Biol. Stud., Lviv (in Ukrainian).
- Jiang, T., Zhang, W., Liang, Y. (2022). Uptake of individual and mixed per-and polyfluoroalkyl substances (PFAS) by soybean and their effects on functional genes related to nitrification.

- [denitrification, and nitrogen fixation. *Science of The Total Environment*, 838, 156640.](#)
- [Li, B., Bao, Y., Xu, Y., Xie, S., Huang, J. \(2017\). Vertical distribution of microbial communities in soils contaminated by chromium and perfluoroalkyl substances. *Science of the Total Environment*, 599, 156–164.](#)
- Mazur, S. O., Chabaniuk, Ya. V., Sherstoboieva, O. V., Demianiuk, O. S., Brovko, I. S., Kordunian, O. O., Shatsman, D. O. (2018). Optymizatsiia mikrobnoho bioriznomanittia gruntiv ahroekosystem [Optimizing soil microbial biodiversity of agroecosystems]. *Metodychni rekomendatsii*. Kyiv (in Ukrainian).
- [Méndez, V. et al. \(2022\). Aerobic biotransformation of 6:2 fluorotelomer sulfonate by *Dietzia aurantiaca* J3 under sulfur-limiting conditions. *Sci. Total Env.*, 25\(9\), 829.](#)
- [Qiao, W., Xie, Z., Zhang, Y., Liu, X., Xie, S., Huang, J., Yu, L. \(2018\). Perfluoroalkyl substances \(PFASs\) influence the structure and function of soil bacterial community: greenhouse experiment. *Science of the total environment*, 642, 1118–1126.](#)
- Ross, I., Hurst, J. (2019). Managing risks and liabilities associated with per-and polyfluoroalkyl substances (PFASs). *Technical Bulletin TB19*. Marie Claire, London, UK.
- [Samarasinghe Vidane Arachchige Chamila Samarasinghe, Bahar, Md. M., Qi, F., Yan, K., Liu, Y., Naidu, R. \(2023\). Evaluating PFHxS toxicity to invertebrates and microbial processes in soil. *Env. Chem. & Ecotoxicol.*, 5, 120–128.](#)
- [Shahsavari, E., Rouch, D., Khudur, L. S., Thomas, D., Aburto-Medina, A., Ball, A. S. \(2021\). Challenges and current status of the biological treatment of PFAS-contaminated soils. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 602040.](#)
- Sheinson, R. S., Williams, B. A., Green, C., Fleming, J. W., Anleitner, R., Ayers, S., Barylski, D. (2002). The future of aqueous film forming foam (AFFF): performance parameters and requirements. *Naval Research Laboratory*, 1(3), 1–6.
- Sun, Q., Zhang, J., Wang, T., Xiong, Y., Zhan, X., Zhao, H., Khim, J. S. (2023). Cooking methods effectively alter perfluoroalkyl substances and nutrients in cultured and wild bullfrogs. *J Hazard Materials*, 445, 130555.
- [Sun, Y., Wang, T., Peng, X., Wang, P., Lu, Y. \(2016\). Bacterial community compositions in sediment polluted by perfluoroalkyl acids \(PFAAs\) using Illumina high-throughput sequencing. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 10556–10565.](#)
- Vaskovets, L. A., Bondarenko, T. S. (2020). Vybir i zastosuvannia zasobiv pozhezhohasinnia dlia riznykh ob'ektiv [Selection and use of fire extinguishing agents for various objects]. *Metodychni vkazivky do laboratornoi roboty*. Kharkiv: NTU «KhPI» (in Ukrainian).
- [Zhang, D., Zhang, W., Liang, Y. \(2019\). Distribution of eight perfluoroalkyl acids in plant-soil-water systems and their effect on the soil microbial community. *Science of the Total Environment*, 697, 134146.](#)
- Zhang, S., Merino, N., Wang, N., Ruan, T., Luo, X. (2017). Impact of 6:2 fluorotelomer alcohol aerobic biotransformation on a sediment microbial community, *Science of the Total Environment*, 575, 13611368.
- [Zhang, X., Gao, X., Li, C., Luo, X., Wang, Y. \(2019\). Fluoride contributes to the shaping of microbial community in high fluoride groundwater in Qiji County, Yuncheng City, China. *Scientific Reports*, 9, 14488.](#)