

УДК 665.637.631.427.2

С.Т. ИБРАГИМОВА, С.А. АЙТКЕЛЬДИЕВА, А.А. КУРМАНБАЕВ, Э.Р. ФАЙЗУЛИНА

ВЛИЯНИЕ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ МЕСТОРОЖДЕНИЙ ЖАНАТАЛАП, КУМКОЛЬ, АКТАС

(ДГП «Институт микробиологии и вирусологии»,
РГП «Центр биологических исследований» МОН РК)

Изучено влияние нефтяного загрязнения на ферментативную активность почв Атырауской, Кызыл-Ординской, Мангистауской областей. Результаты исследования показали, что нефтяное загрязнение стимулировало активность почвенных ферментов, таких как каталаза, дегидрогеназа, полифенолоксидаза, пироксидаза и инвертаза в почвах месторождения Актас, Мангистауской области, лишь активность уреазы была снижена. В нефтезагрязненных почвах месторождений Жанаталап и Кумколь активность всех ферментов, наоборот, была подавлена.

В настоящее время в связи со значительной интенсификацией добычи нефти и производства нефтепродуктов большие масштабы приобретает процесс отторжения земель из сельскохозяйственного использования. В Западном и Южном Казахстане интенсивно эксплуатируются крупные месторождения нефти. Рост добычи углеводородного сырья значительно осложнил экологическую ситуацию в этих регионах. На производственных площадях нефтепромыслов, вдоль линий нефтепроводов и транспортных коммуникаций, на участках разведочного и геофизического бурения широкое распространение получают антропогенно деградированные почвы. Они возникают из-за механических нарушений почвенного покрова, аварий на скважинах, повреждений и коррозии трубопроводов, прорывов карт с нефтешламом и буровыми отходами, загрязнений сточными водами и из-за выбросов токсичных соединений в атмосферу [1].

Нефть и нефтепродукты признаны приоритетными загрязнителями окружающей среды. Данные экотоксиканты отличает высокая токсичность, мутагенный и канцерогенный эффекты, легкая аккумуляция в почве и крайне медленное удаление их из почвы. Поступая в почву, они в первую очередь влияют на ее биологические свойства. Изменяется общая численность микроорганизмов, их качественный состав, структура микробиоценозов, уменьшается интенсивность основных микробиологических процессов и активность почвенных ферментов и т.д. [2]. В результате плодородие почв снижается, почва

становится неспособной выполнять экологические функции. Чем выше степень загрязнения, тем ниже активность ферментов и тем меньше активный слой почвы. На зональных почвах он составляет 120, а на загрязненных – 20 см, поэтому изучение ферментативной активности почв имеет важное значение в оценке почвы [3].

Цель работы – изучение ферментативной активности почв месторождений Кумколь, Жанаталап, Актас (Кызыл-Ординской, Атырауской, Мангистауской областей) в зависимости от степени загрязнения нефтью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объектов исследования использованы почвы месторождений Жанаталап, Кумколь и Актас, загрязненных в разной степени нефтью.

Физико-химическая характеристика нефти месторождения Жанаталап: удельный вес нефти – 0,87 г/см³, плотность при 20°C составляет 0,8437, вязкость при 0°C 36,4 мм² сек. Содержание парафинов – 1,51%, серы 0,12%, асфальтенов 0,02%, силикагелевых смол – 5,62%, сернокислых смол – 6%, температура застывания -45°C, температура вспышки -2°C [4].

Физико-химическая характеристика нефти месторождения Актас: нефти продуктивных горизонтов тяжелые, с плотностью 0,872 – 0,915 г/см³, малосернистые (0,2%), высокопарафинистые (20 – 26,14%). Содержание асфальтенов 2,33 – 5,6%, силикагелевых смол – от 4,54 до 6,8% [4].

Физико-химическая характеристика нефти месторождения Кумколь: в отличие от высокопарафинистых нефтей Мангистау нефть месторождения Кумколь маловязкая и малосернистая. Кумкольские нефти сравнительно легкие ($0,81-0,83\text{ г/см}^3$), содержат много легких фракций, отличаются отсутствием вредных примесей. – $0,87\text{ г/см}^3$. Плотность нефти при 20°C составляет $0,804-0,814\text{ г/см}^3$. Содержание парафинов – 15%, серы 0,27%, асфальтенов 5,4%, силикагелевых смол – 19,2%. Температура застывания составляет $+13^\circ\text{C}$, т.е. исследуемая нефть обладает высоким содержанием высокомолекулярных парафинов типа пентадекана ($\text{C}_{15}\text{H}_{32}$) с температурой застывания $+10^\circ\text{C}$, эйкозана ($\text{C}_{20}\text{H}_{44}$) с температурой застывания $+36^\circ\text{C}$, доказана ($\text{C}_{22}\text{H}_{46}$) с температурой застывания $+44^\circ\text{C}$ и т.д. [4].

Количественное содержание нефти в исследуемых почвах определяли гравиметрическим методом. Нефть из почв экстрагировали хлороформом и гексаном.

В данной работе мы определяли активность следующих почвенных ферментов: каталаза, инвертаза, уреазы, дегидрогеназа, полифенолоксидаза, пироксидаза.

Активность каталазы определили газометрическим методом, предложенным Ф.В. Купревичем [5].

Активность уреазы определяли по количеству углекислого газа, образующегося при гидролизе мочевины [5].

Активность полифенолоксидазы и пероксидазы определяли согласно методике Л.А. Карягиной и Н.А. Михайловской [5].

Активность дегидрогеназы определяли по Lenhard (1962) [5], с использованием субстратов дигидрирования (глюкоза).

Активность инвертазы определяли фотоколориметрическим методом [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие нефтегазовой промышленности приводит к ухудшению состояния почв месторождений Прикаспийского региона и Южного Казахстана. Характеристика сырой нефти на исследуемых месторождениях различна. Так, в нефти месторождения Кумколь отмечается высокое содержание парафинов, силикагелевых смол и асфальтенов – 15, 19,2 и 5,4%, соответственно, по сравнению с нефтью месторождений Жанаталап и Мангистау, что оказывает влияние на формирование битумных кор в почве.

Нами было определено содержание нефти в почвах, отобранных в месторождениях Атырауской, Мангыстауской и Кызыл-Ординской областях.

Проведенный гравиметрический анализ показал, что наибольшее содержание нефти отмечено в почве месторождения Жанаталап, Атырауской области – 86325 мг/кг, наименьшее в почве месторождения Кумколь, Кызыл-Ординской области – 33020 мг/кг почвы. Если сравнить содержание нефти в почвах всех исследуемых месторождений, то к наиболее загрязненным можно отнести почвы месторождения Жанаталап, Атырауской области, но при этом необходимо учитывать качественный состав нефти изучаемых месторождений. По литературным данным [4], содержание нефти в почве до 1500 мг/кг по-

Таблица 1. Характеристика сырой нефти месторождений Жанаталап, Актас, Кумколь

Месторождение	Плотность, г/см ³	Содержание фракций, %			
		сера	парафины	смолы	асфальтены
Жанаталап	0,844	0,400	1,500	5,620	0,020
Мангистау	0,872 – 0,915	0,2	20 – 26,14	4,54 – 6,8	2,33 – 5,6
Кумколь	0,804	0,27	15	19,2	5,4

Таблица 2. Содержание нефти в почве исследуемых месторождений (г) в 1000г почвы:

Месторождение	Степень загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами			
	Очень высокая	Высокая	Средняя	Низкая
Жанаталап	86,325	-	14,785	0,345
Актас	62,34	38,09	-	0,7987
Кумколь	-	33,02	5,885	-

зволяет отнести их к незагрязненным, 5000 до 13000 мг/кг к средне-, от 13000 мг/кг и выше – к сильнозагрязненным нефтью почвам.

Загрязнение почв нефтью приводит к изменениям, которые создают крайне неблагоприятные эдафические условия для жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, нарушается режим их азотного и фосфорного питания, интенсивность окислительно-восстановительных и ферментативных процессов.

С этими биохимическими процессами, происходящими при участии различных ферментов, связан окислительный распад остатков нефти в почве [6].

Важнейшими и широко распространенными деструкторами нефти в почве являются ферменты каталаза и дегидрогеназа. Их активность в почве является одним из критериев состояния почвы в отношении самоочищающей способности ее от нефтяных ингредиентов [6].

Проведенные нами исследования показали, что почвы этих месторождений имеют схожие свойства почвенных ферментов. В отличие от почв месторождения Актас, в загрязненных нефтью почвах месторождений Кумколь и Жанаталап наблюдается снижение активности почвенных ферментов, таких как каталаза, уреазы, дегидрогеназы, полифенолоксидазы, а также пироксидазы (табл. 3).

Снижение активности ряда почвенных ферментов в загрязненной нефтью почве может быть обусловлено как гибелью почвенной мезофауны и флоры – одних из источников почвенных ферментов, так и репрессирующим влиянием нефтяных углеводородов [7].

По результатам исследований можно сказать, что в нефтезагрязненных почвах месторождений Жанаталап и Кумколь активность каталазы несколько снижена в сравнении с незагрязненной почвой, где активность каталазы составляет $2,67 \pm 0,24$ мл O_2 /2мин и $0,57 \pm 0,3$ мл O_2 /2мин соответственно. Вероятно, это связано с избытком органического вещества нефти, обогащенной серой, сероуглеродом, меркаптанами, являющимися ингибиторами этого фермента, а также снижением численности аэробных групп микроорганизмов в результате закупорки воздушных пор и полостей почвы [8].

В нефтезагрязненной почве Мангыстауской области, месторождения Актас, напротив наблю-

дается повышение активности каталазы, причем значение каталазы максимально в среднезагрязненной почве. С.А. Алиев, Д.А. Гаджиев (1977) [9] выявили, что внесение в почву небольших количеств нефтяного органического вещества значительно увеличивает активность каталазы, а повышение доз вызывает снижение активности каталазы. Возможно, этим можно объяснить повышение каталазы в средне загрязненной нефтью почве Мангыстауской области и ее снижение в сильнозагрязненной. Тогда как в незагрязненной ее значение ниже и составила $0,87 \pm 0,20$ мл O_2 /2мин.

Дегидрогеназная активность в сильнозагрязненной нефтью почве месторождения Мангыстауской области была выше, чем в незагрязненной. Очевидно, это обусловлено «старением» загрязнения и началом восстановительных процессов, а также повышением жизнедеятельности микрофлоры и интенсивности процессов биоразложения. Постепенное повышение активности окислительно-восстановительных ферментов в загрязненных нефтью почвах свидетельствует о способности почвы к восстановлению нарушенного биохимического равновесия, направленного к самоочищению [5]. Повышение в загрязненных почвах Мангыстауской области активности дегидрогеназы, участвующей в трансформации углеводородов нефти, по сравнению с чистой при «старении» загрязнения может характеризовать потенциальную способность почвы к окислению нефтепродуктов [8].

В нефтезагрязненных почвах месторождений Жанаталап и Кумколь напротив, отмечено снижение дегидрогеназной активности. Вероятно оно обусловлено токсичностью ароматических фракций для микроорганизмов – продуцентов дегидрогеназ, а также значительным повышением отношения C:N, важным условием для действия дегидрогеназ. Очевидно, в нативном состоянии органическое вещество нефти малодоступно как для микроорганизмов, так и для действия дегидрогеназ.

Уреазы – фермент, участвующий в регуляции азотного обмена в почве, ответственный за разложение мочевины и являющийся одним из показателей нефтяного загрязнения. Этот фермент катализирует гидролиз мочевины до аммиака и углекислого газа, вызывая гидролитическое расщепление связи между азотом и углеродом в

Таблица 3. Ферментативная активность почв месторождений Кумколь, Жанаталап, Актас

Вид почвы	Название месторождения		
	Жанаталап	Кумколь	Актас
Каталаза, мл O₂/2мин			
Сильнозагрязненная	0,20±0,06	0,3±0,17	1,25±0,04
Средне загрязненная	1,63±0,07		2,10±0,15
Контроль	2,67±0,24	0,57±0,3	0,87±0,20
Дегидрогеназа, ед. опт. плотности			
Сильнозагрязненная	0,02±0,01	0,40±0,1	0,60±0,11
Средне загрязненная	0,06±0,01		0,16±0,03
Контроль	0,17 ±0,02	1,55±0,15	0,02±0,00
Уреаза, мг CO₂/г			
Сильнозагрязненная	14,33±1,074	11,90±0,30	11,40±0,20
Средне загрязненная	15,30±0,67		12,50±1,71
Контроль	16,50±0,29	12,05±0,45	13,25±1,76
Инвертаза, мг. глюкозы/г почвы			
Сильнозагрязненная	0,43±0,35	0,23±0,01	0,34±0,03
Средне загрязненная	0,2±0,00		0,00±0,00
Контроль	0,08±0,03	0,28±0,00	0,17±0,01
Полифенолоксидаза, мг. бензохинона на 10г почвы			
Сильнозагрязненная	872,64±36,40	3454,2±105,09	4242,87±30,98
Средне загрязненная	1405,92±78,87		3695,87±942,61
Контроль 1490,76±52,54	4423,80±321,05	3242,00±80,36	
Пироксидаза, мг. бензохинона на 10г почвы			
Сильнозагрязненная	1757,40±59,75	4175,03±205,01	4852,87±330,98
Средне загрязненная	1763,46±113,53		3997,87±542,61
Контроль 2193,72±104,96	4917,6±252,08	3542,00±580,36	

молекулах органических веществ [5]. В почвенном профиле наиболее высокую активность фермента проявляет гумусовый горизонт. Изучение активности уреазы в почвах трех месторождений показало ее небольшое снижение в сильнозагрязненных почвах. Если в незагрязненных почвах месторождений Жанаталап, Кумколь, Актас она составляла (16,33±0,29) мг CO₂/г, (12,05±0,45) мг CO₂/г и (13,25±1,76) мг CO₂/г соответственно, то в сильнозагрязненных почвах снизилась до (14,33±1,074) мг CO₂/г в почве месторождения Жанаталап, в почве месторождения Кумколь ее значение соответствовало (11,90±0,30) мг CO₂/г, в почве месторождения Актас она снизилась до (11,40±0,20) мг CO₂/г.

Активность инвертазы – один из наиболее устойчивых показателей, обнаруживающий наиболее четкие коррелятивные связи с воздействующими факторами. Инвертаза является одним из важных ферментов, характеризующих биологическую активность почв [5]. Результаты исследования показали, что в нефтезагрязненных почвах месторождений Актас и Жана-

талап наблюдается повышение активности инвертазы.

Показатели активности инвертазы в сильнозагрязненной почве месторождения Кумколь были немного ниже относительно незагрязненной почвы. Снижение активности инвертазы может быть связано с низкой активностью целлюлозоразрушающих микроорганизмов и соответственно меньшим содержанием дисахаридов. Но, возможно, в почвах трех месторождений был начат процесс самоочищения, что, как результат, повлекло за собой повышение активности инвертазы в сильнозагрязненных почвах месторождений Актас и Жанаталап; и ее незначительное снижение, т.е. можно сказать, повышение активности инвертазы в загрязненной почве месторождения Кумколь до уровня показателей незагрязненной почвы.

Отмечается снижение активности ферментов пероксидазы и полифенолоксидазы в почвах месторождений Кумколь и Жанаталап, осуществляющих окисление органических веществ почв (фенолов, аминов, некоторых гетероциклических

соединений) за счет кислорода перекиси водорода и других органических перекисей, образующихся в почве в результате жизнедеятельности микроорганизмов и действия некоторых оксидаз. Эти ферменты играют важную роль в процессе образования гумуса. Очевидно, это связано с изменением интенсивности окислительно-восстановительных реакций в загрязненной нефтью почве. Однако в почвах месторождения Актас, напротив, наблюдается повышение активности данных ферментов. Это может быть связано с длительным воздействием ксенобиотика на почву, со значительным содержанием фенольных соединений в нефти.

Таким образом, в загрязненных нефтью почвах нарушаются важнейшие генетические показатели: изменяется естественный морфологический профиль, увеличивается объемная масса почвы, снижается ее порозность и аэрация. За счет нефтяного загрязнения почв увеличивается содержание органического углерода, так как его количество в нефти достигает 83 – 87% [10].

Проведенные исследования почв месторождений Кумколь, Актас и Жанаталап показали, что нефтезагрязненная почва имеет низкие показатели в сравнении с незагрязненной почвой, как следствие, активность ферментов снижена. Характеризуя почвы данных месторождений, можно сказать, что чем выше степень загрязнения, тем ниже активность ферментов и тем меньше «активный» слой почвы. Однако не следует забывать, что каждая почва имеет индивидуальные особенности и способность к самоочищению. По полученным результатам можно сказать, что ферментативная активность сильнозагрязненных почв месторождения Актас выше, чем в незагрязненных почвах. Можно сделать вывод, что нефтяное загрязнение стимулировало активность почвенных ферментов, таких как каталаза, дегидрогеназа, полифенолоксидаза, пироксидаза и инвертаза в почвах месторождения Актас, Мангистауской области, лишь активность уреазы была снижена, в то же время в нефтезагрязненных почвах месторождений Жанаталап и Кумколь активность всех ферментов была подавлена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Терещенко Н.Н., Лушиников С.В., Митрофанова Н.А., Пилипенко С.В. Особенности биологической рекультивации

нефтезагрязненных и техногенно засоленных почв // Экология и промышленность России. 2005. № 5. с. 33-36.

2. Израэль Ю.А., Ровинский Ф.Я. Комплексный фоновый мониторинг в СССР // Комплексный глобальный мониторинг состояния биосферы: Тр. III Межд. симп. 14 – 19 окт. 1985, Ташкент. 1986. Т.1. с. 89 – 105.

3. Куреева Н.А. Микробиологические процессы в нефтезагрязненных почвах. Уфа: БашГУ. 1994. С. 172.

4. Надиров Н. Характеристика месторождений. Принципы оценки ресурсов. Алматы. 2006. Т. 5. С. 108.

5. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М.: Химия, 1984. С. 446.

6. Хазиев Ф. Х. Ферментативная активность почвы. Методическое пособие. М.: Наука, 1976. С. 180.

7. Давыдова С. Л., Тагасов В. И. Нефть и нефтепродукты в окружающей среде. М.: РУДН. 2004. С. 163.

8. Куреева Н.А. Почвенные микроорганизмы как индикаторы загрязнения углеводородами // К реакции организмов в условиях антропогенного окружения. Межвуз. сб. научн. тр. 1992. 17-29 с.

9. Rooney-Varga, J. N., R. T. Anderson, J. L. Fraga, D. Ringelberg, and D. R. Lovley, Microbial communities associated with anaerobic benzene degradation in a petroleum-contaminated aquifer, Appl. Environ. Microbiol. 1999. 65. P. 3056–3063.

10. Алиев С.А., Гаджиев Д.А. Влияние загрязнения нефтяным органическим веществом на активность биологических процессов почв // Изв. Ан АзССР. Сер. биол. наук. 1977. № 2, с. 46-49.

11. Kaplan, C. W. and C. L. Kitts. Bacterial succession in petroleum land treatment unit, Appl. Environ. Microbiol. 2004. 70. P. 1777–1786.

12. Пономарева Л.В., Крунчак В.Г., Торгованова В.А. и др. Биоремедиация нефтезагрязненной почвы с использованием биопрепарата «БИОСЭТ» и пероксида кальция // Биотехнология. 1998. № 1. 79-84 с.

Резюме

Мұнаймен ластанған Жаңаталап, Құмкөл және Актас жер қойнауларындағы топырақтардың ферментативтік өнімділігіне әсері тексерілген. Зерттеулердің нәтижелері бойынша каталаза, дегидрогеназа, полифенолоксидаза, пероксидаза және инвертаза сияқты Актас жерқойнауындағы топырақ ферменттерінің белсенділігі жоғары болған, тек қана уреаз ферментінің белсенділігі төмен болған. Ал Жаңаталап және Құмкөл жерқойнауларындағы мұнаймен ластанған топырақтағы фермент-тердің белсенділігі керісінше төмен болды.

Summary

Influences of oil pollution on fermentation activity of the soils of the oilfields Zhanatalap, Kumkol, Aktas were study. Results of research have shown that oil pollution stimulated activity of soil enzymes, such as katalaza, dehidrogenaza, polyfenoloxydaza, peroxydaza and invertaza in the soils of Aktas oilfield, only ureasa activity has been lowered. In oil polluted soils of oilfields Zhanatalap, Kumkol, Aktas activity of all enzymes has been opposite suppressed.