УДК 631.474+631.452

ВПЛИВ ЗАБРУДНЕННЯ УРБОЕДАФОТОПІВ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ НА КІНЕТИКУ ГІДРОЛІТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ

Т.В. Легостаєва

Дніпропетровський національний університет

Изучено влияние загрязнения урбоэдафотопов металлами промышленных выбросов завода металлоконструкций им. Бабушкина на кинетику инвертазной активности.

Кинетика ферментативных процессов, инвертаза, урбоэдафотоп, концентрация субстрата, скорость реакции, константа Михаэлиса

ВСТУП

За умов збільшеного антропогенного навантаження на біосферу планети, ґрунт, який є елементом природної системи і знаходиться у динамічній рівновазі з іншими її компонентами, піддається деградаційним процесам. Потоки речовин, потрапляючи до ґрунту в результаті техногенезу, включаються в природні цикли, порушуючи нормальне функціонування ґрунтової біоти, і як наслідок, всієї ґрунтової системи. У зв'язку з цим, едафотопи (антропогенно-перетворені ґрунти), що формуються на промислових майданчиках, відрізняються різноманітністю властивостей і стають важливим показником екологічного стану середовища. Це обумовлює актуальність вивчення особливостей їх екологічних функцій.

Ферментативні процеси є найбільш істотними показниками біохімічної активності ґрунту і його родючості. Їх дослідження дає об'єктивне уявлення про перетворення речовин в едафотопі.

Виявлення впливу металів промислових викидів на кінетику ферментативних процесів ґрунту за умов степної зони України вивчено недостатньо. Тому, для нашого регіону ці дослідження є актуальними.

Метою досліджень було вивчення впливу металів, як складової викидів промислових підприємств, на кінетику інвертазної активності урбоедафотопу.

УМОВИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об’єктом наших досліджень був едафотоп на території ВАТ ДЗМК ім. Бабушкіна м. Дніпропетровська, що зазнає аерогенного впливу викидів, які містять метали (Mg, Mn, Al, Cu, Zn, Pb, Fe, Ni, Cd), як пріоритетні забруднювачі. Контролем був ґрунт умовно чистої території (Царичанський район Дніпропетровської області) на відстані біля 80 км від джерел

забруднення. Проби відбирали за загально прийнятою методикою [1] у вересні. Ґрунти представлені важкими суглинками. Для з’ясування кінетичних характеристик ензиматичних процесів у ґрунтах використовувався метод визначення інвертазної активності, запропонований А.Ш. Галстяном [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

До найбільш фундаментальних кінетичних констант ензиматичних процесів відносяться константа Міхаеліса (Км) і максимальна швидкість ферментативної реакції (Vмакс.). Ці характеристики ферментативної кінетики дозволяють встановити стан ферментів у ґрунті, а також виявити характер впливу різних чинників на окремі стадії ферментативних реакцій.

Відомо [4], що Км є сукупністю елементарних констант швидкостей реакції утворення і розпаду фермент-субстратного комплексу і характеризує величину, зворотну спорідненості ферменту до субстрату. Чим вищі значення Км, тим нижчі спорідненість і вірогідність утворення ефективного комплексу, і навпаки. Vмакс. характеризує кінетику останньої стадії реакції – швидкість розпаду фермент-субстратного комплексу на продукти реакції. Чисельно вона дорівнює швидкості ферментативної реакції, яка досягається при повному насиченні ферменту субстратом у процесі реакції.

Ферменти в ґрунті діють у складному середовищі, знаходяться у зв'язаному стані і для їх характеристики можуть бути використані закони ферментативних реакцій в гетерогенних системах [5]. За адсорбції ферменту величина його Км зростає, а Vмакс. зменшується [2, 6], тобто адсорбент (у нашому випадку ґрунт) впливає на обидва процеси: 1) на утворення активного комплексу фермент-субстрат, змінюючи і деформуючи третинну структуру ферментної молекули і перешкоджаючи контакту субстрату з ферментом; 2) на розпад фермент-субстратного комплексу, оскільки і фермент, і субстрат, і продукт розпаду останнього пов'язані з ґрунтом.

У карбонатному чорноземі, який більше відрізняється від інших підтипів чорноземів (за pH, вмістом вільних карбонатів), значення Км і Vмакс. для ґрунтових ферментів відрізняються різко. Так, наприклад, інвертаза в карбонатному чорноземі утворює фермент-субстратний комплекс з жорсткішим зв'язком, про що свідчать нижчі значення Км для цього ферменту. Проте у зв'язку з низькими значеннями Vмакс. у карбонатному чорноземі можливість для високої активності інвертази в ньому не реалізується, і активність її значно нижча, ніж в інших чорноземах.

В ході нашого експерименту була визначена оптимальна експозиція часу, яка надалі використовується в дослідженнях за визначенням величини Vмакс. і Км інвертази в контролі і під впливом забруднення середовища металами.

Значення Vмакс. і Км були розраховані нами за результатами визначення активності ферментів із різними концентраціями субстратів у ґрунті контрольної ділянки і в промисловому едафотопі. Одержані дані показують, що при низьких концентраціях субстрату в ґрунті контрольної ділянки значення початкової швидкості реакції більше, ніж у едафотопі промислової ділянки (Рис.1). При підвищенні концентрації субстрату швидкості ферментативних процесів суттєво не відрізняються, проте в ґрунті контрольного варіанту досліду вона дещо вища.

..

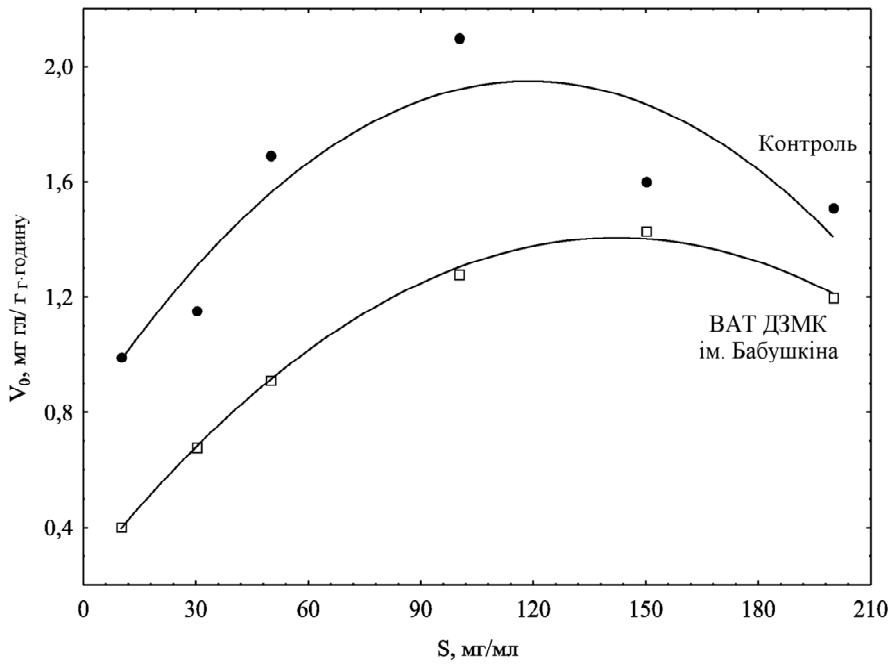


Рисунок 1 – Залежність початкової швидкості реакції розкладу цукрів від концентрації субстрату

У ґрунті контрольної ділянки підвищення кількості продукту реакції відбувається за нижчих значень концентрації субстрату, тобто швидкість ферментативної реакції збільшується. Отже, ми відзначаємо значну відмінність у кінетиці ферментативних процесів, які відбуваються в ґрунті контрольного варіанту і за умов забруднення металами.

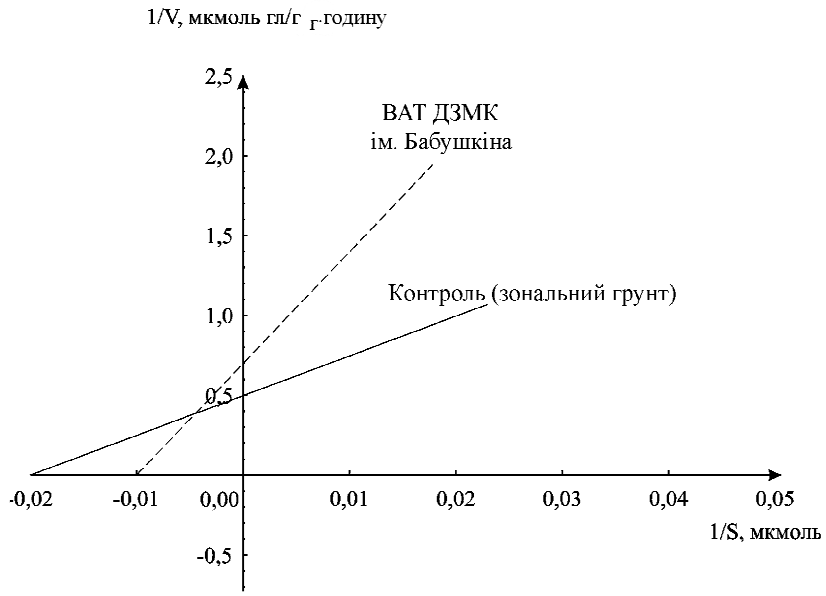


Рисунок 2 – Графік субстратної залежності швидкості реакції розкладу цукрів у зворотних координатах – 1 / V_0 і 1 / S

Графічним способом нами були визначені кінетичні параметри Vмакс. і Км, які складають наступні величини: для ґрунту контрольної ділянки – Vмакс. = 2 мкмоль глюкози/г ґрунту · годину, Км = 50 мкмоль; для промислового едафотопа – Vмакс. = 1,43 мкмоль глюкози/г ґрунту · годину, Км = 100 мкмоль (рис.2).

Таким чином, забруднення важкосуглинкового чорнозему металами, які є складовими промислових викидів, істотно змінює кінетику гідролітичних процесів, які каталізуються інвертазою. Ці процеси інгібуються, що викликано спряженим збільшенням Км і зниженням Vмакс. Із отриманих результатів витікає перспектива подальших досліджень впливу металів, як пріоритетних забруднювачів у складі промислових викидів, на кінетику ферментативних процесів ґрунтів.

ВИСНОВКИ

1. Виявлено зменшення максимальної швидкості процесу розкладу цукрів у ґрунті техногенної ділянки, що пояснюється зміною стану фермент-субстратного комплексу і зниженням швидкості його розпаду у бік утворення продукту реакції.
2. Показник Км у промисловому едафотопі різко збільшується (у два рази). Це свідчить про інгібування ферментативного процесу і пояснюється зниженням доступності ферменту субстрату, внаслідок чого реакція

проходить за вищих концентрацій субстрату, чим в ґрунті контрольної ділянки.

3. Промислове забруднення негативно впливає на кінетичні характеристики інвертазної активності в едафотопах, що дозволяє використовувати цей параметр у біодіагностиці стану техногенних територій.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. 2-е изд. – М.: Изд-во МГУ, 1970. – С. 313–320.*
2. *Веліканов Л.Л., Веліканов Н.Л., Звягинцев Д.Г. Вплив температури на активність вільних і адсорбованих ферментів // Грунтознавство. – 1971. – №3. – С. 62–68.*
3. *Галстян А.Ш., Григорян К.В. Ферментативная диагностика почв // Тр. НИИ почвовед. и агрохимии Арм. ССР, 1978. – №13. – С. 132–140.*
4. *Діксон М., Уебб Э. Ферменти. – М.: Мир, 1982. – Т.3. – С. 1117.*
5. *Mc Laren A.D., Packer L. Some aspects of enzyme reactions in heterogenous system // Adv. Enzymol. – 1970. – Vol.33. – P. 245–308.*
6. *Paulson K.N., Kurts L.T. Michaelis constant of soil urease // Soil Sci. Soc. Amer. Proc. – 1970. – Vol.34. – №1. – P.70 – 72.*

INFLUENCE OF THE HEAVY METALS POLLUTION OF URBOEDAPHOTOPES ON KINETICS OF HYDROLYTIC PROCESSES.

T.V. Legostayeva

Influence of the industrial emissions containing metals on kinetics of invertase activity of urboedaphotopes are explored.

УДК: 631. 46 + 631. 417. 2

Легостаєва Т.В. Вплив забруднення урбоедафотопів важкими металами на кінетику гідролітичних процесів // Питання біоіндикації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2008. – Вип. 13, № 1. – С. 170–174.

Вивчено вплив забруднення урбоедафотопів металами промислових викидів заводу металоконструкцій ім. Бабушкіна на кінетику інвертазної активності. Виявлено зменшення максимальної швидкості ферментативного процесу у ґрунті техногенної ділянки; різке збільшення в промисловому едафотопі (у два рази) показника Км, що свідчить про інгібування ферментативного процесу.

Бібл. 6. Рис. 2.