

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К.И. Сатпаева

Институт Химических и Биологических Технологий

Ергалиева Самал Саматовна

(Ф.И.О. обучающегося)

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

На соискание академической степени магистра

Название диссертации	«Создание и получение биопрепаратов для биоремедиации нефтезагрязненных почв и вод, полученных в результате углеводородного производства».
Направление подготовки	6М070100 – Биотехнология

Алматы 2020

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К.И. Сатпаева

Институт Химических и Биологических Технологий

Ергалиева Самал Саматовна

(Ф.И.О. обучающегося)

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**


На соискание академической степени магистра

Название диссертации «Создание и получение биопрепаратов  
для биоремедиации нефтезагрязненных почв и  
вод, полученных в результате  
углеводородного производства».

Направление подготовки 6М070100 – Биотехнология

Научный руководитель

к.с.х.н., доцент

  
подпись Джамалова Г.А.

«12» августа 2020 г.

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ  
Заведующий кафедрой  
«Химическая и Биохимическая Инженерия»

\_\_\_\_\_ Рафикова Х.С.  
подпись

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020 г.

Алматы 2020

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет

имени К.И. Сатпаева

Институт Химических и Биологических Технологий

Кафедра Химической и Биохимической Инженерии

6M070100 – «Биотехнология»

**УТВЕРЖДАЮ**

Заведующий кафедрой

«Химическая и Биохимическая Инженерия»

Рафикова Х.С.

\_\_\_\_\_

подпись

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020 г.

**ЗАДАНИЕ**

**на выполнение магистерской диссертации**

Магистранту Ергалиева Самал Саматовна

(Ф.И.О. обучающегося)

Тема: Создание и получение биопрепаратов для биоремедиации нефтезагрязненных почв и вод, полученных в результате углеводородного производства

(тема магистерской диссертации)

Утверждена приказом Ректора Университета №\_\_ п от " \_\_ " \_\_\_\_ 20\_\_ г.

Срок сдачи законченной диссертации " \_\_ " \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Исходные данные к магистерской диссертации: *изучение эффективности применения биоактиваторов в процессе биоремедиации, изучение роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё в присутствии нефти и нефтепродуктов, а также разработка технологии биоремедиации почв и вод, загрязненными нефтепродуктами.*

*Перечень подлежащих разработке в магистерской диссертации вопросов:*

- а) вопросы, связанные с изучением эффективности применения биоактиваторов в процессе биоремедиации загрязненных нефтепродуктами почв и воды;*
- б) вопросы, связанные с изучением роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё в присутствии нефти и нефтепродуктов.*

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей): Нет

*Рекомендуемая основная литература:*

1 Rahimi B., Semnani A, Nezamzadeh-Ejhi A, Shakoori Langeroodi H, Hakim Davood M. Monitoring of the Physical and Chemical Properties of a Gasoline Engine Oil during Its Usage // Journal of Analytical Methods in Chemistry, 27 Mar 2012, 2012:819524. DOI: 10.1155/2012/819524.

2 Mohamed Makni, Anissa Haddar, Amor Ben Fraj & Najiba Zeghal (2015) Physico-Chemical Properties, Composition, and Oxidative Stability of Olive and Soybean Oils Under Different Conditions, International Journal of Food Properties, 18:1, 194-204, DOI: 10.1080/10942912.2011.581777.

3 Blume R. Ya., G. V. Lantukh, I. V. Levchuk, S. O. Rakhmetova, D. B. Rakhmetov, Ya. B. Blume, Evaluation of perspective of use of a new hybrid oil culture of tyfon in comparison with its parental species as raw material for biodiesel production, Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv, 10.7124/FEEO.v24.1074, 24, (33-39), (2019).

4 Blume R. Ya., G. V. Lantukh, O. V. Holubets, S. O. Rakhmetova, A. I. Yemets, D. B. Rakhmetov, Ya. B. Blume, Integrated evaluation of seed oil composition and yield potential of oil radish as new high-productive biodiesel source, Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv, 10.7124/FEEO.v23.984, 23, (24-30), (2018).

5 Petrauskaite, V., De Greyt, W., Kellens, M. et al. Physical and chemical properties of trans-free fats produced by chemical interesterification of vegetable oil blends. J Amer Oil Chem Soc 75, 489–493 (1998). <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0252-z>.

6 Erum Zahir, Rehana Saeed, Mehwish Abdul Hameed, Anjum Yousuf, Study of physicochemical properties of edible oil and evaluation of frying oil quality by Fourier Transform-Infrared (FT-IR) Spectroscopy, Arabian Journal of Chemistry, Volume 10, Supplement 2, 2017, Pages S3870-S3876, ISSN 1878-5352, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.05.025>.

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214001014>).

7 Wackett LP. Bioremediation of oil spills: An annotated selection of World Wide Web sites relevant to the topics in Microbial Biotechnology. Microb Biotechnol. 2012;5(3):450-451. doi:10.1111/j.1751-7915.2011.00330.x.

8 Wackett L. P. (2012). Bioremediation of oil spills: An annotated selection of World Wide Web sites relevant to the topics in Microbial Biotechnology. Microbial Biotechnology, 5(3), 450–451. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00330.x>

9 Wackett LP. Bioremediation of oil spills: An annotated selection of World Wide Web sites relevant to the topics in Microbial Biotechnology. Microb Biotechnol. 2012 May;5(3):450–1. doi: 10.1111/j.1751-7915.2011.00330.x. Epub 2012 Apr 16. PMID: PMC3821688.

10 Ronald M. Atlas. Bioremediation of petroleum pollutants // Department of Biology, University of Louisville, Louisville, KY 40292, USA. Available online 23 February 2000. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00030-9](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00030-9).

11 Atlas RM, Hazen TC. Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in U.S. history. Environ Sci Technol. 2011 Aug 15;45(16):6709-15. doi: 10.1021/es2013227. Epub 2011 Jul 8. PMID: 21699212; PMCID: PMC3155281.

12 Zhang, C., Wu, D. & Ren, H. Bioremediation of oil contaminated soil using agricultural wastes via microbial consortium. Sci Rep 10, 9188 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66169-5>.

13 Antić MP., Jovancićević BS., Ilić M., Vrvic MM., Schwarzbauer J. Petroleum pollutant degradation by surface water microorganisms // Environ Sci Pollut Res Int. – 2006. – Vol.13, №5. – P.320-327.



## ГРАФИК



подготовки магистерской диссертации


Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Обзор литературы	30.04.2020	Выполнено
Объект, материал и методика исследований	25.05.2020	Выполнено
Результаты исследования	26.05.2020	Выполнено
Заключение	20.06.2020	Выполнено

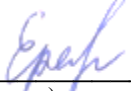
## Подписи

консультантов и нормоконтролера на законченную магистерскую диссертацию с указанием относящихся к ним разделов диссертации

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Биоремедиация нефтезагрязненных почв и воды на основе применения биоактиваторов	Джамалова Г.А., к.с.-х.н., доцент	10.08.2020	
Биоремедиация нефтезагрязненных почв и воды на основе применения испытательного биопрепарата	Джамалова Г.А., к.с.-х.н., доцент	10.08.2020	

Биоремедиация почв и вод, загрязненных нефтепродуктами с применением произведенных биопрепаратов	Джамалова Г.А., к.с.-х.н., доцент:	10.08.2020	
Нормоконтролер	Джамалова Г.А., к.с.-х.н., доцент	10.08.2020	

Научный руководитель  Джамалова Г.А. (Ф.И.О.)  
(подпись)

Задание принял к исполнению обучающийся  Ергалиева С.С. (Ф.И.О.)  
(подпись)

Дата «13» августа 2020 г.

## АННОТАЦИЯ

*Тема:* Создание и получение биопрепаратов для биоремедиации нефтезагрязненных почв и вод, полученных в результате углеводородного производства

*Ключевые слова:* биоремедиация, микробиоценоз, почва, вода, нефтепродукты.

*Цель:* Создание и получение биопрепаратов для биоремедиации почв и вод, загрязненных нефтепродуктами (на примере бензина, керосина).

*Задачи:*

1) биоремедиация загрязненных нефтепродуктами почв и воды на основе применения биоактиваторов;

2) исследования по изучению в присутствии нефти и нефтепродуктов роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё;

3) разработка технологии биоремедиации почв и вод, загрязненных нефтепродуктами (на примере бензина, керосина) с применением биопрепаратов.

*Полученные результаты.* В диссертационной работе описаны результаты, полученные при проведении модельных экспериментов. Исследования показали, что для очистки углеводород-загрязненных объектов окружающей среды (почвы и воды), применение древесных стружек в комплексе с водным раствором мумиё возможно, т.к. процент очистки почвы и воды в их присутствии повышался по сравнению с контрольной группой, в среднем, до 41 – 60 %.

*Объем магистерской диссертационной работы* в цифровом формате 45 электронных страниц формата А 4. Структура диссертационной работы включает вводную часть (1 стр.), обзор литературы (9 стр.), объект и методы (2 стр.) и результаты (20 стр.) исследования, заключение и выводы (1 стр.). В работе представлено 17 рисунков и 9 таблиц. Список литературы включает 48 источников.

## ABSTRACT

*Title:* Creation and production of biological products for bioremediation of soils and waters obtained as a result of hydrocarbon production

*Key words:* bioremediation, microbiocenosis, soil, water, oil products.

*The purpose of the study:* Creation and production of biological products for bioremediation of soils and waters contaminated of oil products (for example, gasoline, kerosene).

*Research objectives:*

1) bioremediation of oil-contaminated soils and water based on the use of bioactivators;

2) studies to study the growth of microorganisms isolated from natural mumiyo in the presence of oil and oil products;

3) development of technology for bioremediation of soils and waters contaminated with petroleum products (for example, gasoline, kerosene) using biological products.

*Results:* The dissertation work describes the results obtained during model experiments. Studies have shown that for cleaning hydrocarbon-contaminated environmental objects (soil and water), the use of wood chips in combination with an aqueous solution of mumiyo is possible, because the percentage of soil and water purification in their presence increased, on average, to 41 - 60%.

The volume of the master's thesis in digital format is 45 electronic pages of format A 4. The structure of the thesis includes an introductory part (1 page), a literature review (9 p.), an object and methods (2 p.) and results (20 p.) of research, conclusion and conclusions (1 p.). The work presents 17 figures and 9 tables. The list of references contains data 48.



## АҢДАТПА

*Тақырыбы:* Көмірсутектерді өндіру нәтижесінде алынған топырақтар мен суларды биоремедиациялау үшін биологиялық өнімдерді жасау және өндіру.

*Түйінді сөздер:* биоремедиация, микробиоценоз, топырақ, су, мұнай өнімдері.

*Мақсаты:* Мұнай өнімдерімен (мысалы, бензин, керосин) ластанған топырақтар мен суларды биоремедиациялау үшін биологиялық өнімдерді жасау және өндіру.

*Міндеттері:*

1) биоактиваторларды қолдану негізінде мұнаймен ластанған топырақтар мен суды биоремедиациялау;

2) мұнай мен мұнай өнімдері болған кезде табиғи мумиёдан оқшауланған микроағзалардың өсуі бойынша зерттеулер;

3) биологиялық өнімдерді қолдана отырып, мұнай өнімдерімен ластанған топырақ пен суды биоремедиациялау технологиясын әзірлеу.

*Алынған нәтижелер.* Диссертациялық жұмыста модельдік тәжірибелер кезінде алынған нәтижелер сипатталған. Зерттеулер көрсеткендей, көмірсутекпен ластанған қоршаған орта нысандарын (топырақ пен су) тазарту үшін ағаш чиптерін мумиёның сулы ерітіндісімен бірге қолдануға болады, өйткені олар болған кезде топырақ пен суды тазарту пайызы орта есеппен 41 - 60% дейін өсті.

Диссертация 45 беттік цифрлық форматтағы көлемде. Диссертациялық жұмыстың құрылымына кіріспе бөлім (1 бет), әдебиетке шолу (9 бет), жұмыс нысаны және әдістері (2 бет) және зерттеу нәтижелері (20 бет), қорытынды және шешім (1 бет) кіреді. Жұмыста 17 сурет пен 9 кесте ұсынылған. Әдебиеттер тізімі 48 деректерден тұрады.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	10
1 Аналитический обзор литературы	11
1.1 Нефть: особенности и свойства	11
1.2 Воздействие нефти на объекты окружающей среды	15
1.3 Технологии и методы биоремедиации нефтезагрязненных объектов окружающей среды – почвы и воды	15
1.4 Культуральные свойства углеводородокисляющих микроорганизмов	19
2 Объект, предмет, материалы и методы исследования	20
2.1 Объект и предмет исследования	20
2.2 Материалы исследования	20
2.3 Методы исследования	20
3 Результаты исследования	22
3.1 Биоремедиация нефтезагрязненных почв и воды на основе применения биоактиваторов	22
3.2 Исследования по изучению в присутствии нефти и нефтепродуктов роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё	29
3.3 Биоремедиация почв и вод, загрязненных нефтепродуктами с применением произведенных биопрепаратов	34
Заключение	40
Библиографический список литературы	41

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. На нашей планете геозапасы нефти, по разным источникам, варьирует в пределах от чуть больше 160,0 до чуть больше 260,0 млрд. т. Наиболее крупными районами добычи нефти являются Америка, Лидерами по запасам нефти являются Венесуэла (300,9 млрд баррелей), Саудовская Аравия (266,5 млрд баррелей) и Канада (169,7 млрд. баррелей), Республика Казахстан в этом рейтинге занимает 12-ю позицию [1, 2]. Исходя из изложенного выше можно утверждать, что процесс разработки месторождений нефти и процесс применения нефти и нефтепродуктов в технологиях производства и потребления сопровождаются процессами техногенного воздействия на природную среду. В этой связи вопрос, связанный с усовершенствованием и разработкой биоремедиационных технологий, актуален.

Цель: Создание и получение биопрепаратов для биоремедиации почв и вод, загрязненных нефтепродуктами (на примере бензина, керосина).

Задачи:

- 1) биоремедиация загрязненных нефтепродуктами почв и воды на основе применения биоактиваторов;
- 2) исследования по изучению в присутствии нефти и нефтепродуктов роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё;
- 3) разработка технологии биоремедиации почв и вод, загрязненных нефтепродуктами (на примере бензина, керосина) с применением биопрепаратов.

Методы исследования: диссертационная работа основана на проведении трех видов исследований: теоретических, лабораторно-экспериментальных и биологической математики.

Научно-практическая значимость. В диссертационной работе описаны результаты, полученные при проведении модельных экспериментов. Исследования показали, что для очистки углеводород-загрязненных объектов окружающей среды (почвы и воды), применение древесных стружек в комплексе с водным раствором мумиё возможно, т.к. процент очистки почвы и воды в их присутствии повышался по сравнению с контрольной группой, в среднем, до 41-60 %.

# 1 ОБЗОР НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Нефть: особенности и свойства

Сырая нефть – это природный уникальный раствор, состоящий из комплекса, с одной стороны, разнообразных по химической структуре углеводородов: от газов ( $C_1-C_4$ ) до твердых частиц ( $C_{60}$ ), с другой – примесей, таких как сера, кислород и азот, а также асфальтенов и смол [3].

Состав сырой нефти представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Состав сырой нефти [3]

В дополнение к рисунку 1 приводится рисунок 2, который описывает химическую природу металлосодержащих соединений сырой нефти.



Рисунок 2 – Химическая природа металлосодержащих соединений сырой нефти [4]

Важнейшие физические характеристики нефти – молекулярная масса, температура кипения, удельный вес (плотность) и вязкость — определяются химической природой и соотношением входящих в нее компонентов [5].

Ниже приводится классификация (рисунок 3), предложенная ГрозНИИ, которая отражает химический состав нефти [6].

Из рисунков 1 - 3 можно заключить, что по плотности сырой нефти судят [7, 8] об углеводородном составе нефти и нефтепродуктов: более высокая плотность указывает на большее содержание ароматических углеводородов, более низкая плотность - на большее содержание парафиновых углеводородов.

Молекулярная масса сырой нефти связана с температурой кипения и определяет для нефти ее химическую природу [9, 10].

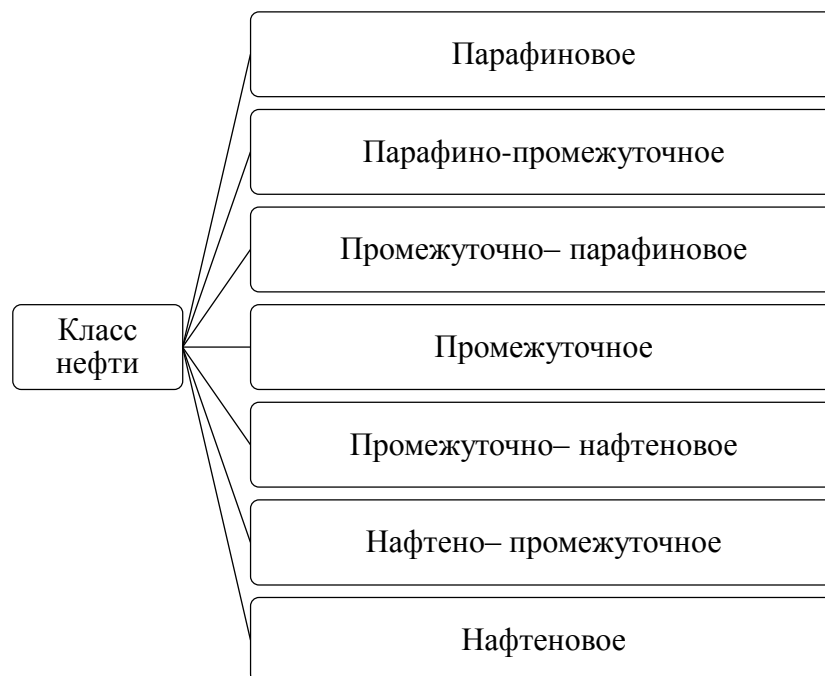


Рисунок 3 - Класс нефти в зависимости от содержания в ней какого – либо одного класса (нескольких классов) углеводородов

В свою очередь, вязкость сырой нефти (оказание сопротивление перемещению под влиянием действующих сил), зависит от молекулярной массы (фракционный состав) и строения (групповой состав), т.к. тем выше вязкость, чем:

- тяжелее фракционный состав,
- больше асфальтосмолистых веществ [3].

Температура вспышки (для большинства ниже  $0^{\circ}\text{C}$ ), воспламенения (образуют устойчивое незатухающее пламя) и затухания, застывания (температура потеря подвижности) – это показатели зависящие от химического состава. Оптические свойства (вращающая способность плоскости поляризации лучей света) для многих нефтей свойственно слабое правое вращение. С увеличением молекулярной массы оптические свойства увеличиваются [11, с.16]. В дополнение следует отметить, что физико-химические сырой нефти из различных месторождений переменны.

Казахстан владеет солидными запасами таких энергетических ресурсов, как нефть, природный газ, уголь и уран и, нет сомнений, что Казахстан является (после Саудовской Аравии, России, США, Ирана, Канады, Мексики, Венесуэлы и других четырех государств) энергетической державой [12-14].



Рисунок 4 – Характер и степень нефтезагрязнений почв [20-23]

## 1.2 Воздействие нефти на объекты окружающей среды

2021 год планируют в Казахстане объявить годом экологии [15]. В этой связи следует отметить, что в последние десятилетия, вследствие нарастающего освоения углеводородного сырья, происходит ухудшение экологического состояния нашей страны, о чем свидетельствует:

- массовая гибель в Каспийском море рыбы и тюленя,
- проявление у рыб физиолого-морфологических отклонений
- присутствие в организмах рыб и других представителей гидробионта патогенных бактерий [16, 17].

Почвенные экосистемы также подвержены загрязнению нефтью и нефтепродуктами. Загрязненные почвенные территории в большей части имеют локальный характер и широко распространены почти во всех регионах Казахстана.

Последствия от нефтезагрязнений в природной среде выявляются и на уровне генетических мутаций из-за необратимости некоторых процессов деградации окружающей среды [18], т.к. нефтехимические загрязнения, прежде всего, отрицательно влияют на физико-химические, а далее и на биологические свойства природных вод и почв [19].

На рисунке 4 показаны факторы, которые определяют характер и степень нефтяного загрязнения почв [20-23].

Как видно из рисунка 4, наиболее токсичными для природной среды являются ароматические углеводороды, трудно деградируются ароматические углеводороды и парафин, тогда как легкие фракции нефти при небольшом воздействии на почвы со временем деградируются под воздействием самой природной среды (эффект самоочищения почв).

## 1.3 Технологии и способы биоремедиации природных вод и почвы

Интенсивное развитие технологий и методов биоремедиации объектов природной среды, почвы и природной воды, – это веление XXI века. В этой связи в таблице 1 приводится упрощенная классификация типов технологий с ее кратким описанием.

Таблица 1 - Классификация типов технологий по геолокации проведения биоремедиации [24-25]

Подход по геолокации проведения биоремедиации	Краткая характеристика
Непосредственно на месте	Подход основан на комплексном подходе различных технологий и характеризуется редуцированием рисков влияния ксенобиотиков на окружающую среду



Подход по геолокации проведения биоремедиации	Краткая характеристика
С удалением почвы с поверхности	Подход: 1) основан на применении сложных способов, которые позволяют повысить безопасность; 2) учитывает не только транспортировку рационального для очистки объема почвы, но и стоимость переноса почвы

Методы, применяемые в описанных в таблице 1 типах технологий, подразделяются, как представлено на рисунке 5, по способу воздействия.

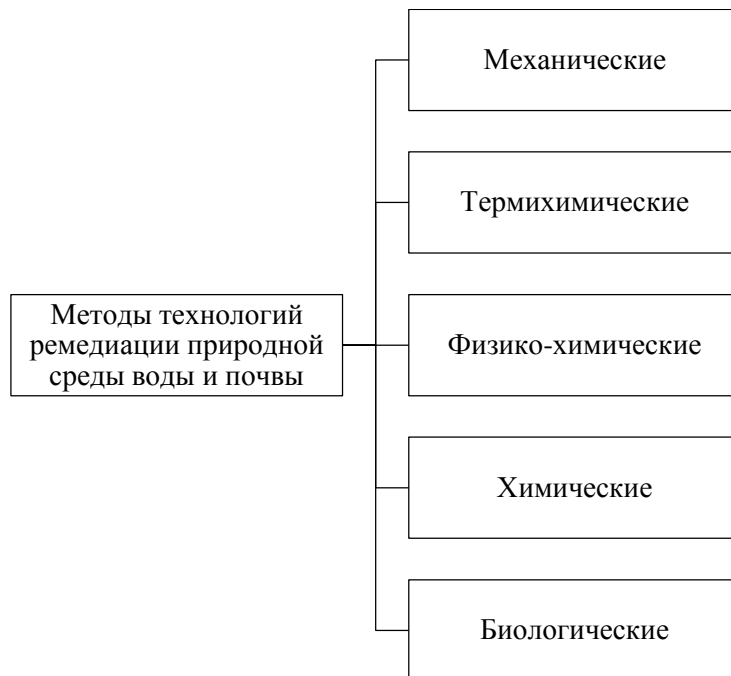


Рисунок 5 – Методы технологий ремедиации по способу воздействия

Биоремедиация объектов окружающей природной среды, почвы и воды, от нефтяных загрязнений – сырой нефти и нефтепродуктов является необходимым первостепенным процессом для целей экологии, т.к. сложность используемых ремедиационных технологий, связанные с любыми способами и видами взаимодействия с нефтью (транспортировка, переработка, извлечение, очистка), сопровождается с опасностью деградации естественных биот [24-25].

Таким образом [26-28] Технологии In Situ и Ex Situ основаны на применении четырех ключевых подходов:

1) механических:

- снятие загрязненных сырой нефтью или нефтепродуктами слоев почвы,

- применение фильтров и центрифуг,
- смешивание загрязненной сырой нефтью или нефтепродуктами почвы с чистой почвой и др.;

2) физико-химических:

- химико-термический метод, который основан на сжигании сырой нефти и нефтепродуктов,

- биодegradация загрязнений сырой нефти и нефтепродуктов на основе интенсивной аэрации,

- применение для очистки от загрязнений сырой нефти и нефтепродуктов электромагнитных полей,

- применение для очистки от загрязнений сырой нефти и нефтепродуктов ультразвуковых полей и др.;

3) химических:

- адсорбция загрязнений сырой нефти и нефтепродуктов веществами органического происхождения, например, торфом;

4) биологических:

- применение биопрепаратов: технология полагается на биохимический потенциал микроорганизмов, которые используют углеводород соединения в качестве источника энергии.

На выбор методологического подхода по ремедиации объектов окружающей природной среды, почвы и воды, влияют основные факторы, представленные на рисунке 6.



Рисунок 6 – Факторы, влияющие на выбор методологического подхода при ремедиации объектов окружающей среды

В дополнение к рисунку 6 следует отметить, что:

1) загрязнение почвы сырой нефтью и нефтепродуктами может быть:

- поверхностным, когда глубина проникновения углеводородного загрязнения достигает 0-5 см,
  - подповерхностно, когда глубина проникновения углеводородного загрязнения достигает 50 см,
  - глубинное, , когда глубина проникновения углеводородного загрязнения достигает 1 м,
  - с проникновением до уровня грунтовых вод, когда глубина проникновения углеводородного загрязнения достигает до 5 и более м;
- 2) активные процессы биодegradации сырой нефти и нефтепродуктов в почвах и природной воде занимает, в среднем, 3–10 недель, только после исследования могут наблюдать медленное снижение содержания углеводородов нефти и нефтепродуктов [29].

Активные процессы биодegradации сырой нефти и нефтепродуктов в почвах и природной воде представлены в виде схемы на рисунке 7.

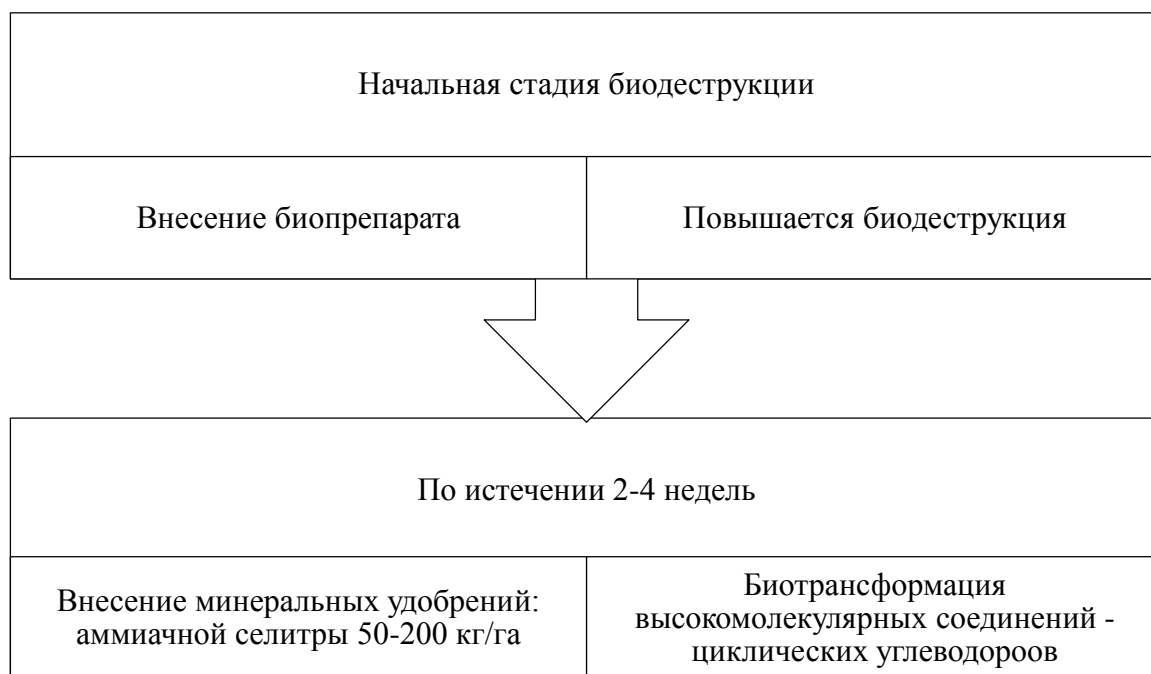


Рисунок 7 - Активные процессы биодegradации сырой нефти и нефтепродуктов в почвах и природной воде

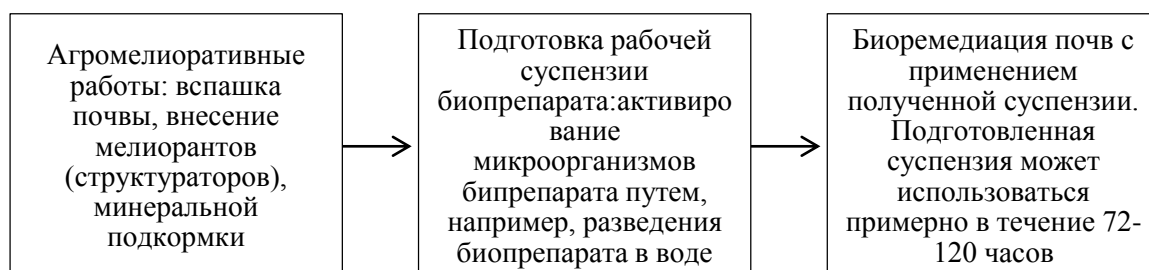


Рисунок 8 - Технология применения биопрепаратов [30-33]

Технология применения биопрепаратов согласно работам [30-33] схематично можно представить в виде схемы, что представлено на рисунке 8.

#### 1.4 Биология углеводородокисляющих микроорганизмов

К основным представителям нефти окисляющих микроорганизмов можно отнести [23-25, 30-33]:

1) из бактерий – это:

<i>Achromobacter</i> ,	<i>Desulfovibrio</i> ,	<i>Rhodococcus</i> ,
<i>Alcaligenes</i> ,	<i>Enterobacter</i> ,	<i>Pseudomonas</i> ,
<i>Bacillus</i> ,	<i>Escherichia</i> ,	<i>Brevibacterium</i> ,
<i>Arthrobacter</i> ,	<i>Flavobacterium</i> ,	<i>Sarcina</i> ,
<i>Citrobacter</i> ,	<i>Methanobacterium</i> ,	<i>Serratia</i> ,
<i>Clostridium</i> ,	<i>Micrococcus</i> ,	<i>Spirillum</i> ,
<i>Corynebacterium</i> ,	<i>Micromonospora</i> ,	<i>Vibrio</i> ,
<i>Cytophaga</i> ,	<i>Mycobacterium</i> ,	<i>Thiobacillus</i> ;

2) из актиномицет – это *Nocardia* и *Streptomyces*;

3) из микромицет – это:

<i>Aspergillus</i> ,	<i>Mucor</i> ,	<i>Penicillium</i> ,
<i>Acremonium</i> ,	<i>Fusarium</i> ,	<i>Trichoderma</i> ;
<i>Cladosporium</i> ,	<i>Gunninghamella</i> ,	

4) из дрожжей – это:

<i>Candida</i> ,	<i>Hansenula</i> ,	<i>Trichosporon</i> ,
<i>Debaryomyces</i> ,	<i>Rhodotorula</i> ,	<i>Torulopsis</i> .
<i>Endomyces</i> ,	<i>Saccharomyces</i> ,	
<i>Endomycopsis</i> ,		

Углеводородокисляющие микроорганизмы имеют следующие ключевые свойства [34]:

1) являются частью гетеротрофного сообщества;

2) встречаются в загрязненных и в незагрязненных нефтью почвах и воде;

3) содержат комплекс углеводород окисляющих и способных поглощать гидрофобный субстрат ферментов.

## **2 ОБЪЕКТ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ**

На данном этапе работы были направлены на разработку технологии проведения модельных экспериментов по созданию и испытанию биопрепаратов, предназначенных для биоремедиации почв и вод, загрязненных нефтепродуктами, в частности, бензина марки А-92 и керосина.

### **2.1 Объект и предмет исследования**

Объект исследования: экспериментально углеводород-загрязнённые почвы и вода.

Предмет исследования: изучение биоремедиационных процессов очистки почвы и воды, модельно загрязненные нефтепродуктами.

### **2.2 Материалы исследования**

Экспериментальные исследования проведены на основе методов отбора проб почвы и воды согласно ГОСТам 17.4.4.02-84 [35, 36], модельного эксперимента согласно ГОСТ 15.101–98 [37], лабораторных химических [38] и микробиологических [35, 36, 39] исследований, биологической статистики [40].

С целью проведения модельного эксперимента объекты для исследования были отобраны в предгорье Алматинской области и модельно подвергнуты загрязнению нефтепродуктами – бензином А-92 и керосином.

### **2.3 Технология исследования**

Технология проведения модельных экспериментов по созданию и испытанию биопрепаратов по биоремедиации почв и природных вод, загрязненных нефтепродуктами, складывалась из этапов работ, представленных в виде схемы на рисунке 9.

Как видно из рисунка 9, технология проведения модельных экспериментов по созданию и испытанию биопрепаратов по биоремедиации почв и природных вод складывалась из трех этапов работ: на первом этапе исследования были направлены на проведение испытательных работ по изучению процессов биодеструкции нефтепродуктов на основе применения таких биоактиваторов, как древесных стружек, на втором этапе была исследована способность выделенных из мумиё микроорганизмов к биодеструкции нефтепродуктов, а на третьем этапе – была разработана технология биоремедиации нефтезагрязненных почв и воды на основе применения испытательного биопрепарата в комплексе с биоактиватором.

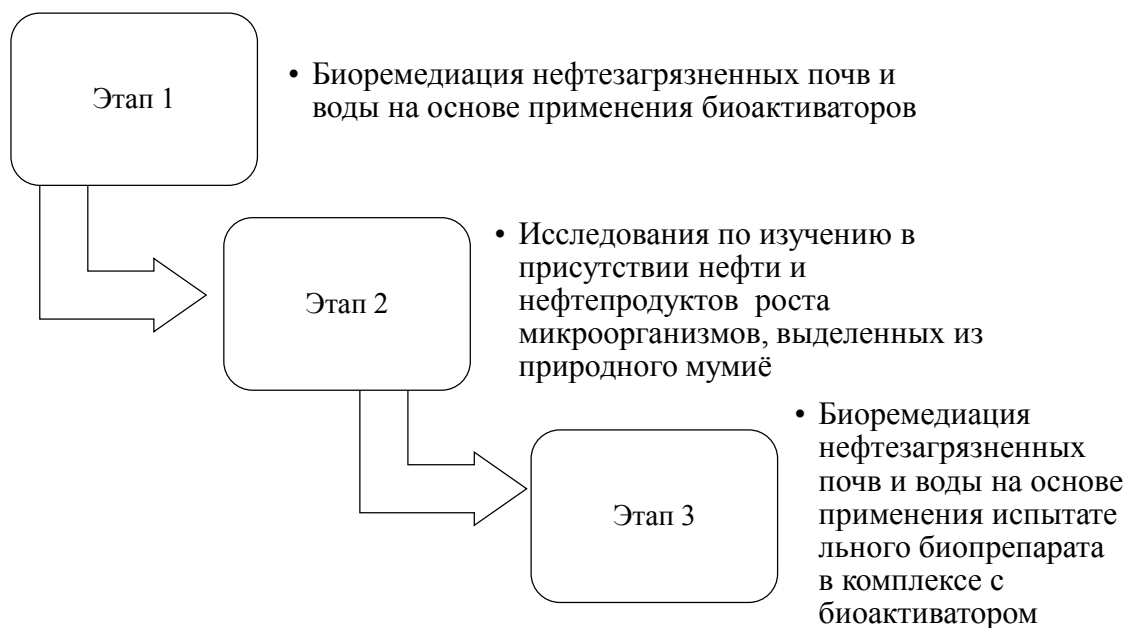


Рисунок 9 – Технология проведения модельных экспериментов по созданию и испытанию биопрепаратов по биоремедиации почв и природных вод

Согласно данным, представленные в работах [30-33], а также учитывая различные локальные факторы, продолжительность каждого этапа для наших исследований не превышало 168 часов.

## 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Биоремедиация нефтезагрязненных почв и воды на основе применения биоактиваторов

В подразделе описаны результаты, полученные при проведении модельных экспериментов. Исследования показали, что для очистки углеводород-загрязненных объектов окружающей природной среды (почвы и воды), применение древесных стружек в качестве биоактиваторов возможно, т.к. процент очистки в их присутствии повышался на 41-60 % соответственно.

На нашей планете геозапасы нефти, по разным источникам, варьирует в пределах от чуть больше 160,0 до чуть больше 260,0 млрд. т. Наиболее крупными районами добычи нефти являются Америка, Лидерами по запасам нефти являются Венесуэла (300,9 млрд баррелей), Саудовская Аравия (266,5 млрд баррелей) и Канада (169,7 млрд. баррелей), Республика Казахстан в этом рейтинге занимает 12-ю позицию [41, 42].

Исходя из изложенного выше можно утверждать, что процесс разработки месторождений нефти и процесс применения нефти и нефтепродуктов в технологиях производства и потребления сопровождаются процессами техногенного воздействия на природную среду. В этой связи вопрос, связанный с усовершенствованием и разработкой биоремедиационных технологий, актуален.

Исследования на данном этапе проводили по схеме, представленной на рисунке 10. В модельном эксперименте, как это показано на схеме рисунка 10, изучали влияние древесных стружек (отходов деревоперерабатывающей отрасли) на процесс очистки (Таблицы 2 и 3) и микробиоценоз (Таблицы 4 и 5) экспериментально загрязненных нефтепродуктами (Бензин А-92, керосин) природных объектов - почв и воды.

Как видно из таблицы 2, исследования по изучению химических показателей загрязнения почв нефтепродуктами и их биодеструкции при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов показало следующую закономерность:

1 Отобранные для исследования почвы были загрязнены нефтепродуктами, а именно бензином марки А-92 (контроль и опыт № 1) и керосином (контроль и опыт № 2), в количестве 82 г на кг почвы.

2 В контрольных группах, когда не были использованы древесные стружки, как биоактиваторы, содержание нефтепродуктов снизилось в исследуемых группах почв на 36 % в контроле № 1, когда в качестве нефтепродуктов был использован бензин марки А-92, тогда как в контрольной группе № 2, когда в качестве загрязнителя был применен керосин, содержание нефтепродукта снизилось через 168 ч на 30 %.

Снижение содержания нефтепродуктов в контрольных группах можно объяснить биологическими свойствами почв, т.к. почвы являются депо для всех видов микроорганизмов, обитаемых в окружающей среде [43-47] и поэтому она обладает свойствами самоочищения.

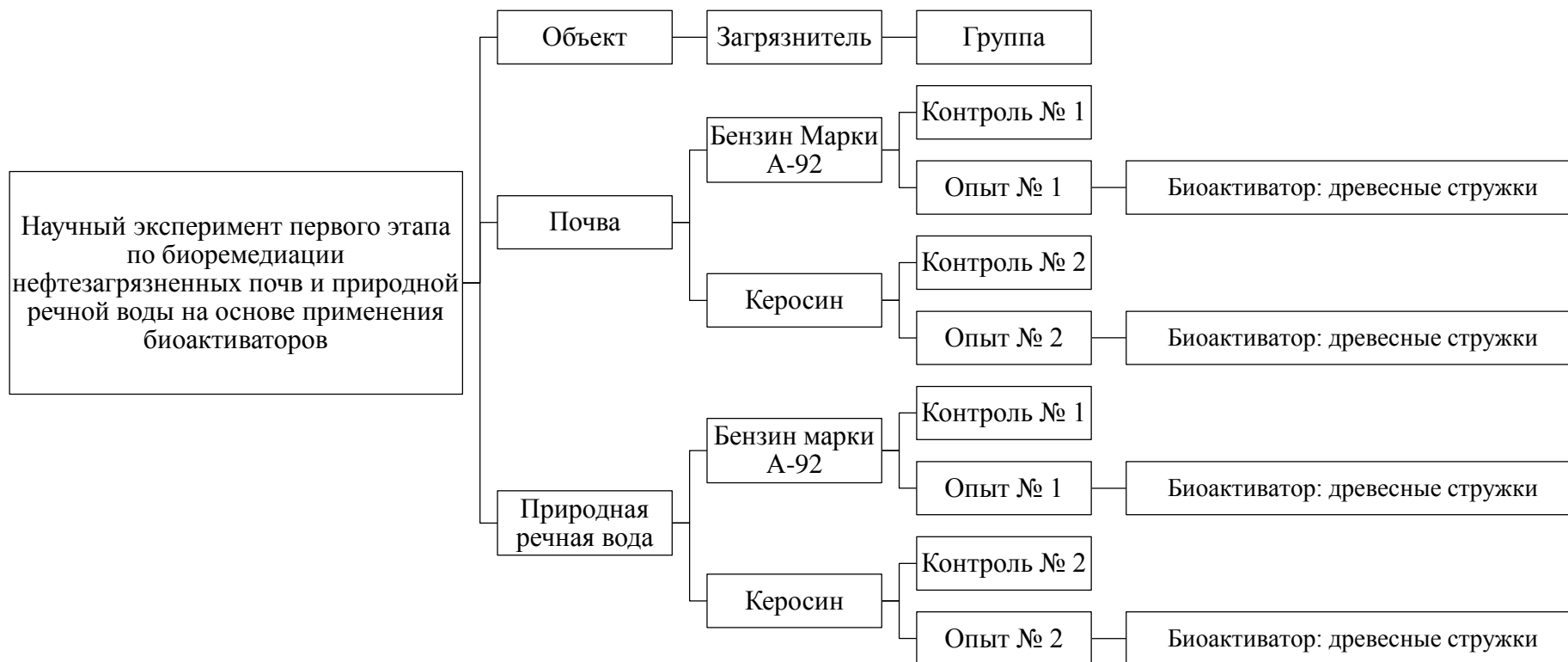


Рисунок 10 – Схема проведения научного эксперимента по биоремедиации нефтезагрязненных почв и природной речной воды на основе применения биоактиваторов



3 В опытных группах, когда были использованы древесные стружки в качестве биоактиваторов биодеструкции нефтепродуктов, содержание бензина марки А-92 (опыт № 1) и керосина (опыт № 2) снизилось в исследуемых группах почв на 40 % и на 41 % соответственно, что на 4 и 11 % соответственно больше с их контрольными группами.

Следовательно, можно утверждать, что в целях повышения биоремедиационных свойств почв, древесные стружки можно применять в качестве биоактиваторов.

Как видно из таблицы 4, изучение микробиологических показателей загрязненных нефтепродуктами почв до и после эксперимента показало, что:

1 В почвах содержание микробиоценоза перед постановкой опыта с бензином находилось на уровне четвертого разведения.

2 По завершению опыта, т.е. через 168 ч, содержание микробиоценоза в почвах не изменилось за исключением контроля № 1, когда количество колониобразующих единиц снизилось через 168 ч на один порядок (с 4-го на 3-е разведение).

Как видно из таблицы 3, исследования по изучению химических показателей загрязнения природной воды нефтепродуктами и их биодеструкции при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов показало следующую закономерность:

1 Отобранные для исследования природные воды из реки Малая Алматинка, были модельно загрязнены нефтепродуктами, а именно бензином марки А-92 (контроль и опыт № 2) и керосином (контроль и опыт № 2), в количестве 96 мл на 1 л воды.

2 В контрольных группах, когда не были использованы древесные стружки, как биоактиваторы, содержание нефтепродуктов снизилось в исследуемых группах опыта на 34 % в контроле № 1, когда в качестве нефтепродуктов был использован бензин марки А-92, тогда как в контрольной группе № 2, когда в качестве загрязнителя был применен керосин, содержание нефтепродукта снизилось через 168 ч на 33 %.

Снижение содержания нефтепродуктов в контрольных группах можно также объяснить биологическими свойствами речной воды, т.к. содержание некоторых видов микроорганизмов, обитаемых в окружающей среде [48] придавать природной воде свойства самоочищения.

3 В опытных группах с природными водами, когда были использованы древесные стружки в качестве биоактиваторов биодеструкции нефтепродуктов, содержание бензина марки А-92 (опыт № 1) и керосина (опыт № 2) снизилось в исследуемых группах на 31 % и на 56 % соответственно, что на 3 % меньше по сравнению с контрольной группой (31 % в опыте № 1 против 34 % в контроле № 1) и на 23 % больше с их контрольной группой (56 % в опыте № 2 против 33 % в контроле № 2).

Таблица 2 – Химические показатели загрязнения почв нефтепродуктами и их биодеструкция при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводородов нефти, г/кг	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Почва	-	-
Контроль № 1	Почва + Бензин А-92 (82 г/кг)	82	52
Опыт № 1	Почва + бензин А-92 (82 г/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	82	49
Контроль № 2	Почва + керосин (82 г/кг)	82	57
Опыт № 2	Почва + керосин (82 г/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	82	48

Таблица 3 – Химические показатели загрязнения природной воды нефтепродуктами и их биодеструкция при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводородов нефти, мл/л	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Вода природная	-	-
Контроль № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л)	96	63
Опыт № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л) + древесные стружки (100 г/л)	96	56
Контроль № 2	Вода + керосин (96 мл/л)	96	64
Опыт № 2	Вода + керосин (96 мл/л) + древесные стружки (100 г/л)	96	42

Таблица 4 – Микробиологические показатели загрязнения почвы нефтепродуктами и их биодеструкция при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводородов нефти, г/кг	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Почва	$(8 \pm 0,9) \times 10^4$	
Контроль № 1	Почва + Бензин А-92 (82 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^3$
Опыт № 1	Почва + бензин А-92 (82 г/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(3,5 \pm 0,7) \times 10^4$
Контроль № 2	Почва + керосин (82 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^4$
Опыт № 2	Почва + керосин (82 г/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(2,5 \pm 0,1) \times 10^4$

Таблица 5 – Микробиологические показатели загрязнения природной воды нефтепродуктами и их биодеструкция при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводородов нефти, мл/л	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Вода природная	$(1,1 \pm 0,6) \times 10^2$	
Контроль № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^2$	$(6,0 \pm 1,4) \times 10^3$
Опыт № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л) + древесные стружки (100 г/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^3$	$(2,2 \pm 0,6) \times 10^3$
Контроль № 2	Вода + керосин (96 мл/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^3$	$(1,1 \pm 1,3) \times 10^3$
Опыт № 2	Вода + керосин (96 мл/л) + древесные стружки (100 г/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^3$	$(2,4 \pm 0,1) \times 10^3$

Следовательно, можно утверждать, что в целях повышения биоремедиационных свойств природной речной воды, древесные стружки можно применять от нефтезагрязнений в качестве биоактиваторов.

Изучение микробиологических показателей при модельном загрязнении природной воды нефтепродуктами показало, что биологическая активность исследуемой воды повысилась после добавления загрязнителя и биоактиватора, что на наш взгляд связано с их дополнительным внесением извне через загрязнитель и биоактиватор.

Резюмируя исследования по изучению химических показателей загрязнения почвы и природной речной воды нефтепродуктами и их биодеструкции при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов можно заключить, что наиболее хорошие результаты по биоремедиации нефтезагрязнений были получены в опытах с керосином, т.к. при сравнении с бензином процент биодеструкции керосина был выше на 1-2 %, тогда как при сравнении с их контрольными группами процент биодеструкции был наиболее существенным, а именно на 11 % в опытах с почвами и на 23 % в опытах с природной речной водой.

В дополнение к вышеизложенному анализу следует отметить, что:

1 В контрольной группе опыта № 1 и опыта № 2 биоактиваторы не использовались.

2 В опытах, проведенных ранее [43, 44], процент очистки был выше, в среднем, на 18-32 %, что связано, на наш взгляд, с условиями проведения эксперимента.

3 Микробиоценоз на исследуемых объектах показал следующие результаты:

- в первом эксперименте наблюдалось снижение микробиоценоза в почвах на один порядок в контрольной группе (с  $10^4$  до  $10^3$  КОЕ/г), тогда как в опытной группе обсемененность осталась на прежнем уровне,

- в воде в контрольной группе № 1, наоборот, наблюдалось повышение обсемененности с  $10^2$  до  $10^3$  КОЕ/мл, по остальным опытам обсемененность осталась без изменения.

Таким образом, результаты исследования показали, что для очистки углеводород-загрязненных объектов окружающей среды (почвы и воды), применение древесных стружек в качестве биоактиваторов возможно, т.к. процент очистки в их присутствии повышался, в среднем, на 31-41 %.

### **3.2 Исследования по изучению в присутствии нефти и нефтепродуктов роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё**

Для создания и получения биопрепарата для биоремедиации нефтезагрязненных почв и вод, полученных в результате углеводородного производства, были проведены лабораторные микробиологические

исследования по изучению активности микроорганизмов, выделенных из природного мумиё.

Цель исследования на данном этапе: выявить возможность микроорганизмов расти в присутствии нефти.

Исследования по изучению в присутствии нефти и нефтепродуктов роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё, состояли из пяти вариантов опыта. При этом каждый из пяти опытов был 2-х повторным.

Исследования на данном этапе проводили по схеме, представленной на рисунке 11.



Рисунок 11 - Исследования по изучению в присутствии нефти и нефтепродуктов роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё

Как видно из рисунка 11, эксперимент состоял из четырех этапов работ:

- 1) этап роста культур на питательной твердой среде Nutrient Agar;
- 2) этап роста культур на питательной жидкой среде Nutrient Broth;
- 3) этап культивирования и роста культур на питательной твердой среде E8 в присутствии сырой нефти (опыт № 1), бензина марки А-92 (опыт № 2), керосина (опыт № 3), мазута (опыт № 4) и битума (опыт № 5);

4) этап анализа роста культур микроорганизмов на твердой питательной среде E8.

Культуры для опыта были взяты с питательной среды Nutrient Agar, в связи с этим возможные, т.е. ожидаемые по инструкции к питательной среде микроорганизмы следующие:

- *Escherichia coli*,
- *Pseudomonas aeruginosa*,
- *Salmonella Typhi*,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Streptococcus pyogenes*,

- *Salmonella Enteritidis*,
- *Salmonella Typhimurium*,
- *Yersinia enterocolitica*,
- *Yersinia enterocolitica*

Данные культуры для наращивания биомассы были после выделения их из твердой питательной среды на чашках Петри переведены на жидкую питательную среду Nutrient Broth.

Культивировались микроорганизмы при 30 С в течении 24 часов.

Затем была приготовлена питательная среда E8:

$\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,7 гр/л

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  – 1,5 гр/л

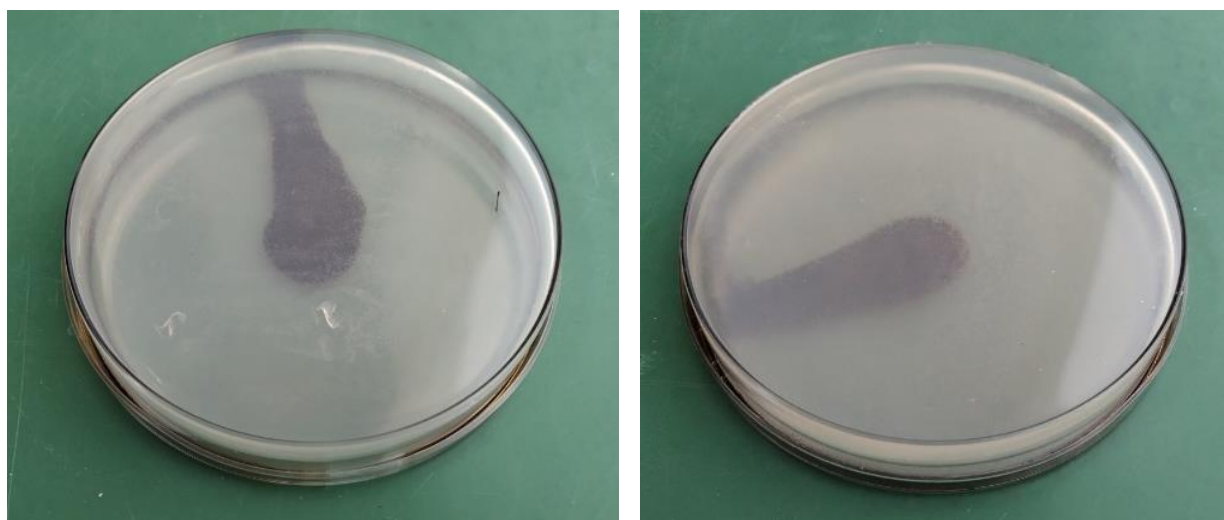
$\text{MgSO}_4$  – 0,8 гр/л

$\text{NaCl}$  – 0,5 гр/л

Агар – 10 гр/л

На данную среду (E8) произвели посев из наращенной биомассы из жидкой питательной среды Nutrient Broth и добавили каплю нефти. Далее чашки Петри с произведенным посевом на питательной среде E8 отправили в термостат для культивирования при 30 °С на 24 часа.

Результаты, полученные при изучении в присутствии нефти роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё, представлены на рисунках 12 – 16.



а)  
повторность № 1

б)  
повторность № 2

Рисунок 12 – Изучение в присутствии сырой нефти роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё

Как видно из рисунка 12 в опыте № 1, присутствие сырой нефти никак не отреагировал на рост микроорганизмов на питательной твердой среде, т.к. в двух повторностях эксперимента через 24 часа культивирования был обнаружен сплошной рост.



Из рисунка 13 видим, что присутствие в среде бензина марки А-92 никак не повлияло на рост микроорганизмов на питательной твердой среде, т.к. в двух повторностях эксперимента через 24 часа культивирования был обнаружен сплошной рост.



а)  
повторность № 1



б)  
повторность № 2

Рисунок 13 – Изучение в присутствии бензина марки А-92 роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё



а)  
повторность № 1



б)  
повторность № 2

Рисунок 14 – Изучение в присутствии керосина роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё

Из рисунка 14 видим, что присутствие в среде керосина никак не повлияло на рост микроорганизмов на питательной твердой среде, т.к. в двух

повторностях эксперимента через 24 часа культивирования был обнаружен сплошной рост.

Из рисунка 15 видим, что присутствие в среде мазута повлияло на рост микроорганизмов на питательной твердой среде, т.к. в двух повторностях эксперимента через 24 часа культивирования рост отсутствовал.



а)  
повторность № 1

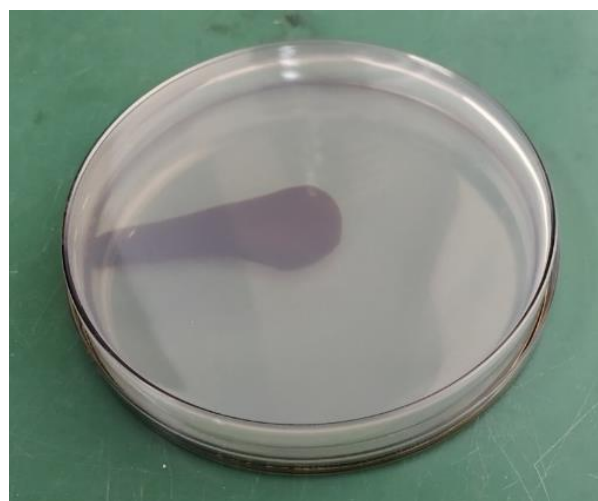


б)  
повторность № 2

Рисунок 15 – Изучение в присутствии мазута роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё



а)  
повторность № 1



б)  
повторность № 2

Рисунок 16 – Изучение в присутствии битума роста микроорганизмов, выделенных из природного мумиё

Из рисунка 16 видим, что присутствие в среде битума повлияло на рост микроорганизмов на питательной твердой среде, т.к. в двух повторностях эксперимента через 24 часа культивирования рост отсутствовал.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что активность микроорганизмов, выделенные из мумие не подавляется нефтью, бензином марки А-92 и керосином, тогда как мазут и битум оказывают отрицательное влияние на их рост.

### 3.3 Биоремедиация нефтезагрязненных почв и воды на основе применения испытательного биопрепарата в комплексе с биоактиватором

На заключительном этапе были проведены работы по изучению биоремедиационных свойств микроорганизмов выделенных из природного мумиё в комплексе с биоактиватором – древесными стружками.

Исследования проводили по схеме, представленной на рисунке 17.

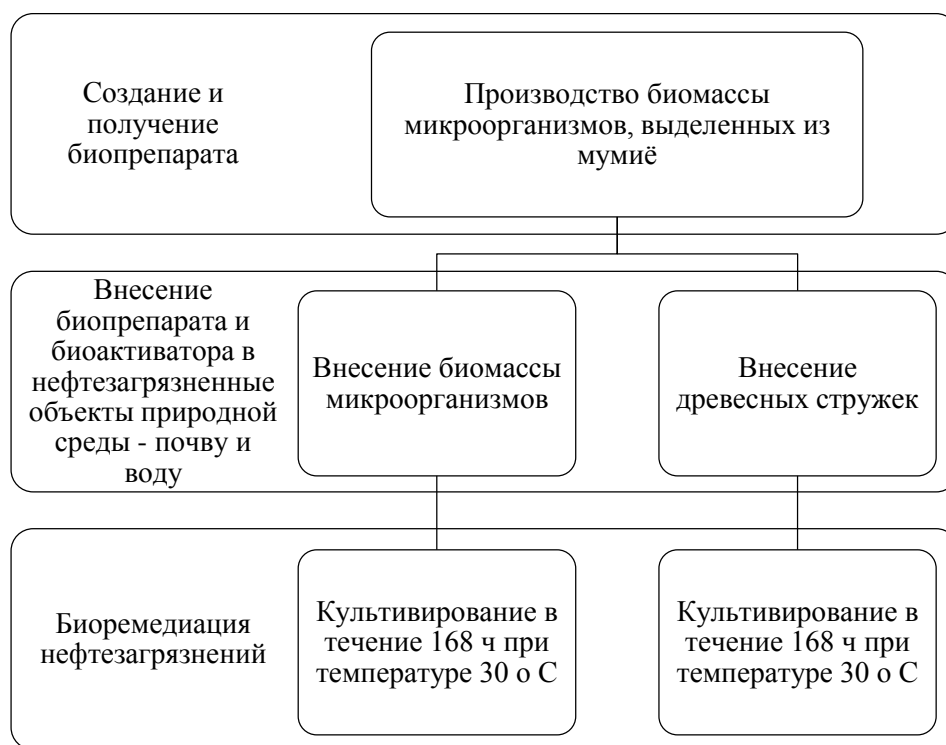


Рисунок 17 - Технология биоремедиации нефтезагрязненных почв и воды на основе применения испытательного биопрепарата в комплексе с биоактиватором

Как видно из рисунка 17, разработанная технология биоремедиации нефтезагрязненных почв и воды на основе применения испытательного биопрепарата в комплексе с биоактиватором включала следующие три этапа работ:

Таблица 6 – Биодеструкция нефтепродуктов при использовании биомассы микроорганизмов в комплексе с древесными стружками

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводородов нефти, г/кг	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Почва	-	-
Контроль № 1	Почва + Бензин А-92 (82 г/кг)	82	52
Опыт № 1	Почва + бензин А-92 (82 г/кг) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	82	34
Контроль № 2	Почва + керосин (82 г/кг)	82	57
Опыт № 2	Почва + керосин (82 г/кг) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	82	32

Таблица 7 – Изучение химических показателей загрязнения природной воды нефтепродуктами и их биодеструкция при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводородов нефти, мл/л	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Вода природная	-	-
Контроль № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л)	96	63
Опыт № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/л)	96	56
Контроль № 2	Вода + керосин (96 мл/л)	96	64
Опыт № 2	Вода + керосин (96 мл/л) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/л)	96	42

Таблица 8 – Микробиологические показатели загрязнения почвы нефтепродуктами и их биодеструкция при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводородов нефти, г/кг	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Почва	$(8 \pm 0,9) \times 10^4$	
Контроль № 1	Почва + Бензин А-92 (82 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^3$
Опыт № 1	Почва + бензин А-92 (82 г/кг) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^6$
Контроль № 2	Почва + керосин (82 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^4$
Опыт № 2	Почва + керосин (82 г/кг) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/кг)	$(2,5 \pm 0,9) \times 10^4$	$(1,5 \pm 0,1) \times 10^6$

Таблица 9 – Микробиологические показатели загрязнения природной воды нефтепродуктами и их биодеструкция при использовании древесных стружек в качестве биоактиваторов

Группа	Модельный эксперимент	Содержание углеводов нефти, мл/л	
		0 ч	168 ч
Отобранная проба	Вода природная	$(1,1 \pm 0,6) \times 10^2$	
Контроль № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^2$	$(6,0 \pm 1,4) \times 10^3$
Опыт № 1	Вода + Бензин А-92 (96 мл/л) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^3$	$(2,0 \pm 0,6) \times 10^4$
Контроль № 2	Вода + керосин (96 мл/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^3$	$(1,1 \pm 1,3) \times 10^3$
Опыт № 2	Вода + керосин (96 мл/л) + биомасса микроорганизмов (50 мл/кг) + древесные стружки (100 г/л)	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^3$	$(3,5 \pm 0,1) \times 10^4$

- создание и получение биомассы микроорганизмов, выделенных из мумий,
- получение биоактиватора,
- внесение биомассы микроорганизмов в комплексе с биоактиватором и их совместное культивирование в нефтезагрязненных объектах природной среды – почве и воде.

В таблицах 6 и 7 представлены результаты, полученные от химических лабораторных исследований, а в таблицах 8 и 9 показаны результаты, полученные от микробиологических исследований по изучению биоремедиационных свойств внесенных в нефтезагрязненный субстрат биомассы микроорганизмов и древесных стружек.

Как видно из данных, представленных в таблицах 6-9, биодеградационные свойства испытуемого биопрепарата были следующими:

1) в почвах, загрязненных нефтепродуктами:

- в опытах с бензином марки А-92, процент биодеградации составил 58 %, тогда как с керосином 60 %;

2) в воде, загрязненных нефтепродуктами:

- в опытах с бензином марки А-92 процент биодеградации составил 41 %, тогда как с керосином 56 %;

3) микробиоценоз на исследуемых объектах показал следующие результаты: во всех опытах наблюдалось повышение микробиоценоза на один порядок с  $10^3$  до  $10^4$  КОЕ/мл в воде и на два порядка с  $10^3$  до  $10^6$  КОЕ/г в почве. Способствовало этому, на наш взгляд, с одной стороны, внесение биомассы микроорганизмов (50 мл/кг почвы или 50 мл/л воды), с другой – совместное культивирование исследуемого объекта с биоактиватором, т.е. с древесными стружками.

Таким образом можно заключить, что биоактиватор в комплексе с микроорганизмами, которые были выделены из мумий, обладают эффективным биодеструкционным эффектом.



## Заключение

Процесс разработки месторождений нефти и процесс применения нефти и нефтепродуктов в технологиях производства и потребления сопровождаются процессами техногенного воздействия на природную среду. В этой связи вопрос, связанный с усовершенствованием и разработкой биоремедиационных технологий, актуален.

Выводы:

1 Созданный и полученный в условиях лаборатории биопрепарат для биоремедиации нефтезагрязненных почв и вод, включал следующие виды микроорганизмов:

- *Escherichia coli*,
- *Pseudomonas aeruginosa*,
- *Salmonella Typhi*,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Streptococcus pyogenes*,
- *Salmonella Enteritidis*,
- *Salmonella Typhimurium*,
- *Yersinia enterocolitica*,
- *Yersinia enterocolitica*.

2 Разработанная технология биоремедиации нефтезагрязненных почв и воды на основе применения испытательного биопрепарата состоит из следующих этапов работ:

- создание и получение биомассы микроорганизмов, выделенных из водного раствора мумиё,
- получение биопрепарата путем соединения в условиях производства двух компонентов - биомассы микроорганизмов и биоактиватора,
- внесение биопрепарата на 168 ч в нефтезагрязненные объекты природной среды – почву и воду.

3 Для очистки углеводород-загрязненных объектов окружающей среды (почвы и воды), применение древесных стружек в комплексе с биомассой микроорганизмов, выделенных из водного раствора мумиё возможно, т.к. процент очистки в их присутствии повышался по сравнению с контрольной группой на 10-20 %, т.е. до 41 – 60 %.

## Библиографический список литературы

- 1 Гуревич И.Л. Технология переработки нефти и газа. М., Химия, 1973. -359 с.
- 2 Казахстан занимает 12-е место в списке 15 самых богатых нефтью стран. URL: <https://zonakz.net/2019/03/27/kazakhstan-zanimaet-12-e-mesto-v-spiske-15-samux-bogatux-neftyu-stran/> (дата обращения: 07.04.2020).
- 3 Давыдова С.Л., Тагасов В.И. Нефть и нефтепродукты в окружающей среде: Учеб. пособие. - М.: Изд-во РУДН, 2004. -163 с.
- 4 Rahimi B., Semnani A, Nezamzadeh-Ejhih A, Shakoori Langeroodi H, Hakim Davood M. Monitoring of the Physical and Chemical Properties of a Gasoline Engine Oil during Its Usage // Journal of Analytical Methods in Chemistry, 27 Mar 2012, 2012:819524. DOI: 10.1155/2012/819524.
- 5 Mohamed Makni, Anissa Haddar, Amor Ben Fraj & Najiba Zeghal (2015) Physico-Chemical Properties, Composition, and Oxidative Stability of Olive and Soybean Oils Under Different Conditions, International Journal of Food Properties, 18:1, 194-204, DOI: 10.1080/10942912.2011.581777.
- 6 Химия нефти и газа: Учебное пособие для вузов /Под ред. В. А. Проскурякова и А. Е. Дробкина. – Л.: Химия, 1981. – 359 с.
- 7 Blume R. Ya., G. V. Lantukh, I. V. Levchuk, S. O. Rakhmetova, D. B. Rakhmetov, Ya. B. Blume, Evaluation of perspective of use of a new hybrid oil culture of tyfon in comparison with its parental species as raw material for biodiesel production, Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv, 10.7124/FEEO.v24.1074, 24, (33-39), (2019).
- 8 Blume R. Ya., G. V. Lantukh, O. V. Holubets, S. O. Rakhmetova, A. I. Yemets, D. B. Rakhmetov, Ya. B. Blume, Integrated evaluation of seed oil composition and yield potential of oil radish as new high-productive biodiesel source, Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv, 10.7124/FEEO.v23.984, 23, (24-30), (2018).
- 9 Petrauskaite, V., De Greyt, W., Kellens, M. et al. Physical and chemical properties of trans-free fats produced by chemical interesterification of vegetable oil blends. J Amer Oil Chem Soc 75, 489–493 (1998). <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0252-z>.
- 10 Erum Zahir, Rehana Saeed, Mehwish Abdul Hameed, Anjum Yousuf, Study of physicochemical properties of edible oil and evaluation of frying oil quality by Fourier Transform-Infrared (FT-IR) Spectroscopy, Arabian Journal of Chemistry, Volume 10, Supplement 2, 2017, Pages S3870-S3876, ISSN 1878-5352, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.05.025>.  
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214001014>).
- 11 Плачкова С. Г., Плачков И. В., Дунаевская Н. И. и др. / Энергетика: история, настоящее и будущее: От огня и воды к электричеству/ Киев: Издательский дом «АДЕФ-Украина», 2012 – 2013.
- 12 Нефтедобывающая и газовая промышленность Казахстана располагает уникальными запасами углеводородного сырья. По разведанным

запасам страна занимает 12-е место в мире Statistical Review of World Energy 2016. URL: <http://www.bp.com> (дата обращения: 19.12.2017.2017;

13 Внешняя торговля Республики Казахстан 2007–2011. Статистический сборник. Астана: Агентство Республики Казахстан по статистике, 2011. – 176 с. Интернет-ресурс: <http://www.stat.gov.kz>.

14 Statistical Review of World Energy 2016. URL: <http://www.bp.com> (дата обращения: 19.12.2019).

15 2021 год предложили объявить годом экологии в Казахстане / Тулеубекова А, Нур-Султан. URL: <https://www.zakon.kz/5033721-2021-god-predlozhili-obyavit-godom.html> (дата обращения: 28.07.2020).

16 Гаджиев А.А., Шихшабеков М.М., Абдурахманов Г.М., Мунгиев А.А.. Анализ экологического состояния Каспия и проблем воспроизводства рыб. - М.: Наука, 2003. - 424 с.

17 Кенжегалиев А.К., Хасанова А.А., Моисеева Г.П. Экологическое состояние Атырауской области в связи с промышленным освоением шельфа Каспийского моря // Вестник Атырауского института нефти и газа. - 2002. - №1. - С. 171-173.

18 Сапаров А.С. Биологическая продуктивность почв Казахстана в условиях антропогенеза // Почвоведение и агрохимия. Алматы. 2008. - С. 17-18.

19 Киреева Н.А. Влияние загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами на численность и видовой состав микромицетов / Н.А. Киреева, Н.Ф. Галимзянова // Почвоведение, 1995.- №2,- с.211-216.

20 Гриценко А.И. Экология. Нефть и газ / А.И. Гриценко, Г.С. Акопов, В.М. Максимов. - М.: Наука, 1997.-598 с.

21 Шамаева А.А. Исследование процессов биоремедиации почв и объектов, загрязненных нефтяными углеводородами: Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биол. Наук: 14.11.2007 / Башкирский гос. унив-т.- Уфа.- 2007.

22 Панов Г.Е. Охрана окружающей среды на предприятиях нефтяной и газовой промышленности / Г.Е. Панов, Л.Ф. Петряшин, Г.Н. Лысяный. - М.: Недра, 1986.- 244 с.

23 Wackett LP. Bioremediation of oil spills: An annotated selection of World Wide Web sites relevant to the topics in Microbial Biotechnology. Microb Biotechnol. 2012;5(3):450-451. doi:10.1111/j.1751-7915.2011.00330.x.

24 Wackett L. P. (2012). Bioremediation of oil spills: An annotated selection of World Wide Web sites relevant to the topics in Microbial Biotechnology. Microbial Biotechnology, 5(3), 450–451. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00330.x>

25 Wackett LP. Bioremediation of oil spills: An annotated selection of World Wide Web sites relevant to the topics in Microbial Biotechnology. Microb Biotechnol. 2012 May;5(3):450–1. doi: 10.1111/j.1751-7915.2011.00330.x. Epub 2012 Apr 16. PMID: PMC3821688.

- 26 Самойлов В.С., Левадный В.С. Дренаж и очистка сточных вод // Аделант, 2009. – 288 с.
- 27 Жмыхов А.А. Мониторинг земель Атырауской области // Аналит. обзор Атырау: ЦНИТИ, 2002. – 329 с.
- 28 Абросимов А.А. Экология переработки углеводородных систем // М.: Химия, 2002. – 608 с.
- 29 Назарько М. Д., Щербаков В. Г., Александрова А. В. «Перспективы использования микроорганизмов для биodeградации нефтяных загрязнений почв». № 4, 2004. URL: <https://moluch.ru/archive> (дата обращения: 08.06.2020).
- 30 Atlas RM, Hazen TC. Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in U.S. history. Environ Sci Technol. 2011;45(16):6709-6715. doi:10.1021/es2013227.
- 31 Ronald M. Atlas. Bioremediation of petroleum pollutants // Department of Biology, University of Louisville, Louisville, KY 40292, USA. Available online 23 February 2000. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00030-9](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00030-9).
- 32 Atlas RM, Hazen TC. Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in U.S. history. Environ Sci Technol. 2011 Aug 15;45(16):6709-15. doi: 10.1021/es2013227. Epub 2011 Jul 8. PMID: 21699212; PMCID: PMC3155281.
- 33 Zhang, C., Wu, D. & Ren, H. Bioremediation of oil contaminated soil using agricultural wastes via microbial consortium. Sci Rep 10, 9188 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66169-5>.
- 34 Antić MP., Jovancićević BS., Ilić M., Vrvic MM., Schwarzbauer J. Petroleum pollutant degradation by surface water microorganisms // Environ Sci Pollut Res Int. – 2006. – Vol.13, №5. – P.320-327.
- 35 ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.
- 36 ГОСТ 31861-2012 Вода. Общие требования к отбору проб.
- 37 ГОСТ 15.101–98. Межгосударственный стандарт. Порядок выполнения научно–исследовательских работ.
- 38 М 03-03-97. Методика выполнения измерения массовой доли нефтепродуктов в пробах почвы.
- 39 Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н. и др. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. (ред. Нетрусов А.И.). М.: Академия, 2005 г.-608 с.
- 40 Соловьева О.Э., Васильева А.Д., Кацнельсон Л.Б., Курганов А.Г., Сульман Т.Б., Мархасин В.С. Математическое моделирование живых систем. Учебно-методическое пособие. УрФУ. Екатеринбург. 2012. - 320 с.
- 41 Гуревич И.Л. Технология переработки нефти и газа. М., Химия, 1973. -359 с.
- 42 Казахстан занимает 12-е место в списке 15 самых богатых нефтью стран. URL: <https://zonakz.net/2019/03/27/kazakhstan-zanimaet-12-e-mesto-v-spiske-15-samyx-bogatyx-neftyu-stran/> (дата обращения: 07.04.2020).

43 Рзагалиева А.Д., Шаймерденова У.Т., Мусина У.Ш., Джамалова Г.А. Биоремедиация почв, загрязненных бензином // Материалы X Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL: <http://scienceforum.ru/2018/article/2018007743> (дата обращения: 10.04.2020 ).

44 Кайыргаликызы Ж.К., Шаймерденова У.Т., Мусина У.Ш., Джамалова Г.А. Биоремедиация почв, загрязненных дизельным топливом и керосином // Материалы X Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL: <http://scienceforum.ru/2018/article/2018007805> (дата обращения: 10.04.2020).

45 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Москва, Изд-во МГУ, 1991. - 304 с.

46 Никитин Д.И. Почвенная микробиология. М.: Колос, 1979. - 318 с.

47 Микробиология: лекционный курс по дисциплине для студентов факультета «Защита растений» / И.В. Сердюченко – Краснодар: «Световод», 2015. – 87 с.

48 Микробиология: краткий курс лекций для студентов II курса направления подготовки 35.03.08 «Водные биоресурсы и аквакультура» / сост.: Щербаков А.А., // ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2016. – 69 с.