

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ  
КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский  
технический университет имени К.И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. Турысова

*(наименование института)*

Кафедра химической и биохимической инженерии

*(наименование кафедры)*



**ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ**

Заведующий кафедрой «ХиБи»

Доктор Ph.D.

19 09 34 Амитова А.А.

"20" мая 2022 г.

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

На тему: "Биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами"

*(тема дипломной работы)*

по специальности 5B070100– биотехнология

*Шифр и наименование специальности*

Выполнил

Алимжанов Олжас Даниярович

Рецензент

к.б.н. профессор кафедры биотехнологии  
факультета биологии и биотехнологии  
КазНУ им. Аль-Фараби

Атамбаева Ш.А.

"30" мая 2022г.

Научный руководитель

Доктор Ph.D., сеньор-лектор  
кафедры ХТОВИП

Рафикова Х.С.

"30" мая 2022г.

Алматы 2022

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ  
КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский техниче-  
ский университет имени К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. Турысова  
(наименование института)

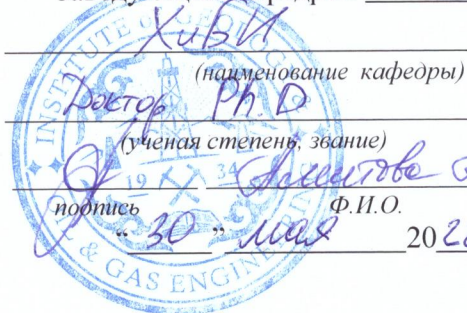
Кафедра химической и биохимической инженерии  
(наименование кафедры)

5B070100–биотехнология

Шифр и наименование специальности

**УТВЕРЖДАЮ**

Заведующий кафедрой \_\_\_\_\_



(наименование кафедры)

(ученая степень, звание)

подпись Ф.И.О.

2022 г.

**ЗАДАНИЕ**

**на выполнение дипломной работы**

Обучающемуся Алимжанову Олжасу Данияровичу

(Ф.И.О. обучающегося)

Тема: Биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами.

(тема дипломной работы)

Утверждена приказом Ректора Университета №4 8 9 - П – от "24" декабря 2022г.

Срок сдачи законченной работы "8" июня 2022г.

Исходные данные к дипломной работе: почвы, загрязненные тяжелыми металлами;  
общая обсемененность почв

Краткое содержание дипломной работы:

- а) постановка и проведение модельного эксперимента;
- б) химические и микробиологические исследования;
- в) изучены вопросы, связанные с биобезопасностью.

Перечень графического материала: *представлены 9 слайдов презентации работы.*

Рекомендуемая основная литература: из 34 наименований, представленные в списке использованной литературы.

**ГРАФИК**  
подготовки дипломной работы (проекта)

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы	14.03.2022	
Материал и методика исследования	14.04.2022	
Результаты исследования. Заключение	10.05.2022	

**ПОДПИСИ**

консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу  
(проект) с указанием относящихся к ним разделов работы (проекта)

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Дипломная работа	Рафикова Х.С., доктор Ph.D., сеньор-лектор кафедры ХТОВИП	30.05.2022	
Нормоконтролер	Рафикова Х.С., доктор Ph.D., сеньор-лектор кафедры ХТОВИП	30.05.2022	

Научный руководитель

(подпись)

(Ф.И.О)

Задание принял к исполнению обучающийся

(подпись)

(Ф.И.О)

Дата

" 30 " 05 2022 г

## АННОТАЦИЯ

Дипломная работа выполнена на бумажном носителе в объеме 35 страниц (3,53 Мб на электронном носителе). Диплом включает введение (1 стр.), 3 раздела (20 стр.), заключение и выводы (1 стр.), библиографический список литературы из 34 наименований, 9 таблицы, 14 рисунков.

В настоящее время одной из актуальных проблем является загрязнение почвы. Причиной загрязнения является множество факторов. Одним из наиболее опасных являются тяжелые металлы, попавшие в почву. Опасными тяжелые металлы считаются из-за их низкой подвижности, а также долгим сохранением в окружающей среде. Данное исследование является очень актуальным в связи с тем, что необходимы мониторинг, а также методы эффективные в борьбе с тяжелыми металлами. Одним из таких методов является биоремедиация. Биоремедиация – это метод очистки загрязненных почв микроорганизмами, способными уменьшать концентрацию металлов в почве. Работа выполнена, чтобы показать роль микроорганизмов в очистке почвы, а также доказать их эффективность. В данной работе изучен биопрепарат, стимулирующий рост микроорганизмов в питательной среде, а также изучены культуральные свойства микроорганизмов, выращенных на питательной среде с добавлением биопрепарата.

Целью исследования была биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами, а также оценка экологического состояния почв, загрязнённых тяжелыми металлами, и разработка мероприятий по их биоремедиации при использовании биопрепарата. Теоретическое и экспериментальное выявление роли микроорганизмов в биоремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

Научная и практическая ценность работы заключалась в разработке методики биоремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

Для выполнения поставленных задач была выполнена научно-исследовательская работа, а также проведены расчеты по обсемененности почвы.

На основе результатов будет выявлена эффективность биопрепарата, а также эффективность метода биоремедиации в очистке почв, загрязненных тяжелыми металлами.

## АНДАТПА

Дипломдық жұмыс 35 бет көлемінде қағаз тасығышта орындалды (электрондық тасығышта 3,53 Mb). Диплом кіріспе (1 бет), 3 бөлім (20 бет), қорытынды және тұжырымды (1 бет), 34 атаудан тұратын әдебиеттердің библиографиялық тізімін, 9 кестені, 14 суретті қамтиды.

Қазіргі уақытта өзекті мәселелердің бірі – топырақтың ластануы. Ластанудың себебі көптеген факторлар болып табылады. Ең қауіптілерінің бірі – топыраққа түскен ауыр металдар. Ауыр металдар төмен қозғалғыштығына, сондай-ақ қоршаған ортада ұзақ сақталуына байланысты қауіпті болып саналады. Бұл зерттеу өте маңызды, өйткені мониторинг, сондай-ақ ауыр металдармен күресте тиімді әдістер қажет. Осындай әдістердің бірі – биоремедиация. Биоремедиация – бұл ластанған топырақты топырақтағы металдардың концентрациясын төмендететін микроорганизмдермен тазарту әдісі. Жұмыс микроорганизмдердің топырақты тазартудағы рөлін көрсету, сонымен қатар олардың тиімділігін дәлелдеу үшін жасалды. Бұл жұмыста қоректік ортада микроорганизмдердің өсуін ынталандыратын биологиялық өнім зерттелді, сонымен қатар биологиялық өнімді қосу арқылы қоректік ортада өсірілген микроорганизмдердің мәдени қасиеттері зерттелді.

Зерттеудің мақсаты ауыр металдармен ластанған топырақты биоремедиациялау, сондай-ақ ауыр металдармен ластанған топырақтың экологиялық жағдайын бағалау және биологиялық өнімді пайдалану кезінде олардың биоремедиациясы бойынша іс-шаралар әзірлеу болды. Ауыр металдармен ластанған топырақтың биоремедиациясындағы микроорганизмдердің рөлін теориялық және эксперименттік анықтау.

Жұмыстың ғылыми және практикалық құндылығы ауыр металдармен ластанған топырақты биоремедиациялау әдістемесін жасау болды.

Қойылған міндеттерді орындау үшін ғылыми-зерттеу жұмыстары жүргізілді, сондай-ақ топырақты себу бойынша есептеулер жүргізілді.

Нәтижелер негізінде биопрепараттың тиімділігі, сондай-ақ ауыр металдармен ластанған топырақты тазартудағы биоремедиация әдісінің тиімділігі анықталады.

## ANNOTATION

The graduate work was completed on paper in the volume of 35 pages (3.53 Mb on electronic media). The diploma includes an introduction (1 page), 3 sections (20 pages), conclusion and inference (1 page), a bibliographic list of 34 titles, 9 tables, 14 figures.

Currently, one of the urgent problems is soil pollution. The cause of pollution is a variety of factors. One of the most dangerous are heavy metals trapped in the soil. Heavy metals are considered dangerous because of their low mobility, as well as long preservation in the environment. This study is very relevant due to the fact that monitoring is needed, as well as effective methods in the fight against heavy metals. One of these methods is bioremediation. Bioremediation is a method of cleaning contaminated soils by microorganisms capable of reducing the concentration of metals in the soil. The work was done to show the role of microorganisms in soil purification, as well as to prove their effectiveness. In this work, a biological preparation that stimulates the growth of microorganisms in a nutrient medium has been studied, and the cultural properties of microorganisms grown on a nutrient medium with the addition of a biological preparation have also been studied.

The aim of the study was the bioremediation of soils contaminated with heavy metals, as well as the assessment of the ecological state of soils contaminated with heavy metals, and the development of measures for their bioremediation when using a biological product. Theoretical and experimental identification of the role of microorganisms in bioremediation of soils contaminated with heavy metals.

The scientific and practical value of the work consisted in the development of a technique for bioremediation of soils contaminated with heavy metals.

To fulfill the tasks set, research work was carried out, as well as calculations on soil contamination were carried out.

Based on the results, the effectiveness of the biopreparation will be revealed, as well as the effectiveness of the bioremediation method in cleaning soils contaminated with heavy metals.

## СОДЕРЖАНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	8
1	Обзор научной литературы	9
1.1	Микробиоценоз почвы	9
1.1.1	Физико-химические свойства почвы	10
1.2.	Тяжелые металлы, загрязняющие почвы	11
1.2.1	Влияние тяжелых металлов на микрофлору	11
1.2.2	Источники тяжелых металлов в почве	12
1.2.3	Анализ тяжелых металлов в почвах	13
1.3	Биоремедиация почв, загрязнённых тяжёлыми металлами: особенности, принципы и методы	14
1.3.1	Разновидности биоремедиации	14
1.3.2	Преимущества и недостатки биоремедиации	15
2	Объект, материал и методика исследований	16
2.1	Объект исследования	16
2.2	Материал исследования	16
2.3	Методика исследования	19
3	Проведение лабораторных исследований	19
	Заключение	30
	Список литературы	31

## ВВЕДЕНИЕ

*Актуальность.* Тяжелые металлы являются наиболее опасным загрязнителем из антропогенных загрязнителей окружающей среды из-за их токсичности и стойкости в окружающей среде. Прошлые исследования показали, что воздействие на человека высоких концентраций тяжелых металлов приведет к их накоплению в организме человека. Угроза, которую тяжелые металлы представляют для здоровья людей и животных, усугубляется их низкой подвижностью в окружающей среде, даже при большом количестве осадков, и их длительным сохранением в окружающей среде. Растущая концентрация металлов в почве является серьезной и актуальной проблемой для правительственных и регулирующие органы по оценке экологических и человеческих рисков. Поэтому использование простых и точных методов мониторинга тяжелых металлов имеет большое значение среди экологических исследований.

*Объект исследования.* Почвы, загрязненные тяжелыми металлами, а также микроорганизмы, влияющие на ее очистку.

*Цель исследования.* Биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами

*Задачи исследования:*

- 1) Изучение влияния биопрепарата “Дар плодородия” на процесс очистки почв, загрязненных тяжелыми металлами.
- 2) Изучить культуральные свойства штаммов микроорганизмов, выращенных на твердых питательных средах.
- 3) Изучить в сравнительном аспекте рост колиморфных бактерий на твердой питательной среде в присутствии и отсутствии биопрепарата.

*Научная и практическая значимость.* На основании результатов работы разработан способ очистки почв, загрязненных тяжелыми металлами, основанный на повышении эффективности биологических методов очистки, и обеспечивающий очистку почв до уровня ориентировочно допустимых концентраций. Помимо этого, полученные данные могут быть использованы при выборе методов биоремедиации в зависимости от типа почвы и степени ее загрязнения в условиях разных климатических зон.

Структура и объем дипломной работы. Дипломная работа по теме «Биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами» подготовлена на 33 страницах машинописного текста, включает 14 рисунков, 9 таблиц, 34 научных литературных источников.



## **1. Обзор научной литературы.**

### **1.1. Микробиоценоз почв.**

Наземная почва, являясь продуктом в первую очередь жизнедеятельности микробиоты, находится под постоянным воздействием экологических и антропогенных факторов.

Из-за большой поверхности контакта с окружающей средой микроорганизмы чрезвычайно чувствительны к переменным условиям жизни, а их высокие темпы размножения позволяют определять изменения, которые развиваются из-за экологических и антропогенных факторов за короткий период.

Значимыми направлениями в современных исследованиях экологии микроорганизмов являются изучение структуры микробных групп в зависимости от воздействия экологических и антропогенных факторов, определение отношений и взаимодействия между различными организмами в подземной среде, в том числе с использованием методов математического моделирования, функциональной стабильности микробиоценозов и их генетического разнообразия. В то же время взаимодействие членов микробных групп определяется как исходный фактор, и рассматривается определение механизмов взаимодействия микроорганизмов и их последствий важно для определения принципов динамики численности микробиоты, понимания их функционирования в естественных условиях и для создания эффективных искусственных микробиоценозов [1].

Совокупное воздействие физических, химических и биологических факторов окружающей среды может привести к дестабилизации и возможной потере первоначальных микробиологических свойств почвы с последующими изменениями в стратегии выживания микроорганизмов, развитием патогенных свойств у свободноживущих форм и увеличением роста паразитарной и патогенной микрофлоры.

Химическое загрязнение оказывает сильное воздействие на почвенную микробиоту, тем самым в значительной степени влияя на состав, структуру и устойчивое функционирование природных биогеоценозов [2].

В исследованиях М.М. Голлербах (1906-1953) выявил, что микроорганизмы, обильно развивающиеся на поверхности обрабатываемых почв, служат источником дополнительного органического вещества и биологически активных веществ в питании растений. Они вовлечены в обогащение почвы азотом, многие сине-зеленые водоросли являются фиксаторами атмосферного азота и накапливают азот на целинных почвах до 17,5 кг/га и на почвах в тропической зоне до 90 кг/га. Установлено, что они обильно развиваются в толще почвенного слоя и, обогащая почву органическими веществами, повышают ее плодородие [3].

Особенность микроорганизмов заключается в том, что в случае их жизнедеятельности в неблагоприятных условиях они быстро уменьшают свою

численность, а потом при благоприятных условиях так же быстро увеличивают количество особей, вплоть до максимального значения. Почвенные микроорганизмы участвуют в трансформации всех химических соединений и элементов, способ их существования – взаимосвязь почвы с микроорганизмами, которые в ней обитают. В связи с этим все виды деградации почв сказываются на состоянии микроорганизмов [4].

Температура и влажность являются важными компонентами экологических условий, которые влияют на структуру микробиоценозов и активность различных таксонов в группе и регулируют основные почвенно-биологические процессы.

Перечень микробиологических и биохимических параметров для адекватной оценки экологического состояния почвы в агроэкосистемах остается недостаточно обсужденным и не до конца обоснованным. Целью данного исследования было определить особенности формирования микробиоценоза почвы в агроэкосистемах в зависимости от типа почвы, использования удобрений и гидротермического режима анализируемого периода и определить наименьшее количество микробиологических показателей, характеризующих экологическое состояние почвы в агроэкосистемах [5].

### **1.1.1 Физико-химические свойства почвы.**

Наиболее важным соображением должны быть те свойства почвы, которые влияют на движение и удержание воды, которые способствуют накоплению и поставке питательных веществ [6].

Физические параметры:

– Температура. Температура почвы колеблется от -20 до +60°C. Температура почвы является наиболее важным свойством, поскольку она показывает свое влияние на химические, физические и биологические процессы, связанные с ростом растений.

– Текстура. Текстура почвы показывает ее влияние на аэрацию и проникновение корней. Это также влияет на питательный статус почвы.

– Содержание влаги. Поглощение питательных веществ почвой во многом зависит от влажности почвы. Влажность почвы также оказывает свое влияние на текстуру почвы.

Химические параметры:

– рН. Наиболее важным свойством почвы является ее уровень рН, его влияние на все остальные параметры почвы. Поэтому при анализе любого вида почвы учитывается рН. Если рН меньше 6, то говорят, что это кислая почва, диапазон рН от 6-8,5 - нормальная почва, а больше 8,5 – щелочная почва.

– Органическое вещество. Если почва бедна органическим веществом, то это усиливает процесс эрозии почвы. Если в почве присутствует органическое

вещество почвы, то эта почва полезна для сельскохозяйственной практики. Органическое вещество может быть добавлено в почву в виде навоза, компоста и т.д.

– Азот. Азот является основным компонентом атмосферы, но жизненно важным питательным веществом, которого не хватает живым организмам [7].

– Фосфор. Это один из самых важных микроэлементов, необходимых для роста растений. Фосфор чаще всего ограничивает количество питательных веществ, оставшихся в ядрах растений, и действует как накопитель энергии.

– Калий. Он участвует во многих реакциях метаболизма растений, начиная от лигнина и целлюлозы, используемых для образования клеточных структурных компонентов, для регуляции фотосинтеза и производства растительных сахаров, которые используются для различных метаболических потребностей растений [8].

## **1.2. Тяжелые металлы, загрязняющие почвы.**

Растения нуждаются в определенных тяжелых металлах для своего роста и поддержания, чрезмерное количество этих металлов может стать токсичным для растений, а способность растений накапливать незаменимые металлы в равной степени позволяет им приобретать другие несущественные металлы. Поскольку металлы не могут быть расщеплены, когда концентрации внутри растения превышают оптимальных уровней, они отрицательно влияют на растение как прямо, так и косвенно, и некоторые из прямых токсических эффектов, вызванных высокой концентрацией металлов, включают ингибирование цитоплазматических ферментов и повреждение клеточных структур из-за окислительного стресса, косвенным же токсическим действием является замещение необходимых питательных веществ в местах катионообмена растений. Уменьшение количества полезных почвенных микроорганизмов из-за высокой концентрации металлов может привести к уменьшению разложения органического вещества, что приведет к снижению плодородия почвы [9].

### **1.2.1 Влияние тяжелых металлов на микрофлору.**

Тяжелые металлы влияют на численность, разнообразие и микробную активность почвенных микроорганизмов. Они могут вызвать замедление скорости роста и размножения микроорганизмов в почве, после чего преобладают медленно растущие микроорганизмы с меньшим разнообразием и более высокой устойчивостью к тяжелым металлам, но сниженной биологической активностью. Токсичность тяжелых металлов для почвенной микрофлоры зависит от pH, температуры, неорганических анионов и катионов, глинистых минералов, водных

оксидов металлов, формы и количества органических веществ, химических форм, в которых встречаются металлы, и т.д. [10].

На концентрацию тяжелых металлов оказывают влияние свойства почв. В почвах тяжелого гранулометрического состава, как правило, обнаруживаются более высокие концентрации тяжелых металлов, песчаные и супесчаные почвы в меньшей степени накапливают их. Значительное влияние оказывают кислотно-основные свойства почв. В условиях кислой среды нерастворимая часть фракции тяжелых металлов переходит в растворимые формы, тем самым концентрация тяжелых металлов в кислых почвах может нарастать [11].

### **1.2.2 Источники тяжелых металлов в почве.**

Тяжелые металлы попадают в окружающую среду как из природных (геогенных), так и из антропогенных источников. В то время как основные породы и металлические минералы доминируют в природных источниках, антропогенные источники варьируются от сельского хозяйства (удобрения, навоз, пестициды и т.д.), металлургии (добыча полезных ископаемых, плавка, обработка металлов и т.д.) и производства энергии (этилированный бензин, производство аккумуляторов, электростанции и т.д.).

Загрязнители могут быть выделяется в газообразной (аэрозольной), дисперсной, водной (или) твердой форме в зависимости от отрасли. Они могут исходить из точечных (или) рассеянных источников [12]. Самыми мощными поставщиками отходов, обогащенных металлами, являются предприятия по выплавке цветных металлов (алюминиевые, глиноземные, медно-цинковые, свинцово-плавильные, никелевые, титаномагниевого, ртутные и др.), а также по переработке цветных металлов (радиотехнические, электротехнические, приборостроительные, гальванические и пр.). В пыли металлургических производств, заводов по переработке руд концентрация Pb, Zn, Bi, Sn может быть повышена по сравнению с литосферой на несколько порядков (до 10-12), концентрация Cd, V, Sb – в десятки тысяч раз, Cd, Mo, Pb, Sn, Zn, Bi, Ag – в сотни раз. Отходы предприятий цветной металлургии, заводов лакокрасочной промышленности и железобетонных конструкций обогащены ртутью. В пыли машиностроительных заводов повышена концентрация W, Cd, Pb [13].

Таблица 1 – Основные техногенные источники тяжелых металлов.

Источники тяжелых металлов	Элементы
Цветная металлургия	Pb, Zn, Cu, Hg, Mn, Sb, W, Co, Cd
Черная металлургия	Ni, Mn, Pb, Cu, Zn, W, Co
Энергетика	As, Sb, Se
Нефтяная промышленность	Pb, Cu, Ni, Zn, Mn
Сжигание угля	Sb, As, Cd, Cr, Mo
Сжигание нефти	As, Pb, Cd

Находясь в почвах, эти химические элементы и их соединения вместе с пылью попадают в дыхательную систему, а с пищей и водой - в другие органы человека. Выбросы от транспортных средств содержат большое количество экотоксикантов, относящихся к классу опасности 1:3,4-бенз(а)пирен, мышьяк, кадмий, ртуть, свинец, цинк и др. По словам В.Н. Пшенина, геохимические аномалии цинка образуются вдоль автомобильных дорог в результате износа шин, истирания тормозных колодок и других деталей с антикоррозийным покрытием. В отличие от свинца, цинк более подвижен, поэтому легче перемещается по профилю почвы, поглощается растениями и мигрирует в водную среду [14].

Источниками избыточного выброса  $Mo^{5+}$  в окружающую среду являются добыча полезных ископаемых, биосодержащие вещества, удобрения, производство сплавов, катализаторов и угля, а также сжигание нефти. Биологическая роль Мо основана на совместном образовании комплекса птерина (кофактора Мо), связывании с ферментами, участвующими в метаболизме азота (нитратредуктаза) и серы (сульфитоксидаза), катаболизме пуринов и биосинтезе гормонов. Тем не менее, как дефицит, так и чрезмерное воздействие этого металла может вызвать нарушения в функционировании живых организмов и, следовательно, экосистем хотя, согласно Das et al. (2007), ее прямое влияние на метаболические процессы микроорганизмов относительно невелико, повышенное содержание этого элемента может снизить азотфиксацию [15].

### 1.2.3 Анализ тяжелых металлов в почвах.

При определении тяжелых металлов в почвах, растительной продукции и других объектах окружающей среды атомно-абсорбционный метод занимает ведущее положение, особенно для таких металлов как Cu, Pb, Zn, Cd, Hg и др.

Атомно-абсорбционный анализ основан на способах свободных атомов, определяемых элементов, образующихся в пламени при введении в него анализируемых растворов, селективно поглощать резонансное излучение определенных для каждого элемента длин волн. Наиболее универсальным, удобным и стабильным источником получения свободных атомов является пламя.

В пламени происходит испарение растворителя, растворенные вещества превращаются в мелкие твердые частицы, которые далее плавятся и испаряются [16].

Методы последовательных селективных вытяжек – эти методы часто называют также методами фракционирования соединений тяжелых металлов в почве. Используют экстрагирующие реактивы, растворяющие отдельный почвенный компонент, либо разрушающих определенный тип связи ионов металлов с фазами-носителями. В результате обработки почвы в растворы переходят ионы и соединения тяжелых металлов, которые, как предполагается, можно объединить в одну совокупность, называемую фракцией или группой соединений тяжелых металлов.

Данные, полученные в ходе фракционирования, позволяют:

- 1) оценить и разделить антропогенное и естественное содержание тяжелых металлов в почве;
- 2) оценить подвижность тяжелых металлов и способность их закрепления в почве;
- 3) прогнозировать способность почвы закреплять дополнительное количество тяжелых металлов в условиях возрастающей антропогенной нагрузки [17].

### **1.3. Биоремедиация почв, загрязнённых тяжёлыми металлами: особенности, принципы и методы.**

Биоремедиация – это использование организмов (микроорганизмов и/или растений) для обработки загрязненных почв. Это широко распространенный метод восстановления почвы, поскольку считается, что он происходит в результате естественных процессов, это в равной степени экономически эффективный метод восстановления почвы. Хотя биоремедиация является неразрушающим методом рекультивации почв, обычно требует много времени, и на его использование для обработки загрязненных тяжелыми металлами почв иногда влияют климатические и геологические условия участка, подлежащего рекультивации. Тяжелые металлы не могут быть разложены во время биоремедиации, а могут быть преобразованы только из одного органического комплекса или состояния окисления в другое [18]. Большое разнообразие грибов, водорослей и бактерий используются в качестве биосорбентов для восстановления тяжелых металлов, и некоторые из них вызывают металл переход и снижение токсичности. Многие микроорганизмы доказали свою эффективность в удалении токсичных тяжелых металлов [19].

Методы деградациии загрязнителей в почвах при использовании микроорганизмов. Принцип их действия: деструкция загрязнителей различными видами микроорганизмов за счет активизации аборигенной микрофлоры или внесении в грунт определенных культур микроорганизмов, использование

комплексных биопрепаратов и других методов при создании оптимальной среды для развития определенных групп микроорганизмов, разлагающие загрязнитель. Почва становится пригодной для выращивания растений [20].

Эти микроорганизмы могут быть местными для этого загрязненного участка или могут быть выделены и доставлены извне на загрязненный участок для биоремедиации. Процесс биодegradации зависит от благоприятных условий окружающей среды, типа и растворимости загрязняющего вещества, а также биодоступности загрязняющего вещества для микробов, поэтому условия окружающей среды контролируются или регулируются [21].

### **1.3.1 Разновидности биоремедиации.**

Биовентиляция – биозащита глубоких слоев почвы. Доказано, что биовентиляция является полезной технологией для восстановления различных участков в различных условиях. Однако биовентиляция имеет некоторые ограничения: одно ограничение связано со способностью доставлять кислород в загрязненную почву. Кроме того, участки с неглубоким загрязнением уровня могут представлять проблему для метода биовентиляции, поскольку разработка системы, которая может свести к минимуму выбросы в окружающую среду и может обеспечить достаточную аэрацию, может быть затруднена [22].

Биоаккумуляция – это добавление питательных веществ к микроорганизмам, используемых для разложения загрязняющих веществ с контролем температуры, влажности, pH и акцепторов электронов. Некоторыми из наиболее важных питательных веществ являются азот, фосфор и углерод, все они необходимы для метаболизма и скорости роста биоразлагаемых организмов, и это ускоряет скорость биодegradации, когда условия окружающей среды благоприятны. В большинстве этих исследований удалось повысить активность биодegradации только при добавлении питательных веществ в виде соединений неорганических удобрений [23].

Биоаттенуация – это еще один метод обработки *in situ*, применяемый для микробиологического восстановления тяжелых металлов. Этот метод использует естественные процессы для контроля распространения загрязнения в результате разливов химических веществ и снижения концентрации загрязняющих веществ на загрязненных участках. Следовательно, загрязняющие вещества окружающей среды остаются нетронутыми, что обеспечивает возможность естественной дегradации, уменьшения или трансформации загрязняющего вещества. Естественное ослабление является частью очистки участка, и оно также включает в себя контроль или устранение источника загрязнения [24].

Биозарядка – биологическая очистка включает в себя нагнетание воздуха под давлением ниже уровня грунтовых вод для увеличения концентрации кислорода в подземных водах и увеличения скорости биологического разложения

загрязняющих веществ естественными бактериями. Биозарядка увеличивает перемешивание в зоне насыщения и тем самым увеличивает контакт между почвой и грунтовыми водами. Простота и низкая стоимость установки точек впрыска воздуха малого диаметра обеспечивают значительную гибкость в проектировании и конструкции системы [25].

### **1.3.2 Преимущества и недостатки биоремедиации.**

Преимущества биоремедиации:

- Биоремедиация является естественным процессом и поэтому воспринимается общественностью как приемлемый процесс переработки отходов для загрязненных материалов, таких как почва. Количество микробов, способных разрушать загрязнение, увеличивается при наличии загрязняющего вещества; когда загрязняющее вещество разлагается, популяция, подверженная биологическому разложению, уменьшается.

- Требуется меньше энергии по сравнению с другими технологиями;
- Биоремедиация может оказаться менее дорогостоящей, чем другие технологии, используемые для очистки опасных отходов;
- Биоремедиация полезна для полного уничтожения широкого спектра загрязняющих веществ. Многие соединения, которые по закону считаются опасными, могут быть преобразованы в безвредные продукты [26].

Недостатки биоремедиации:

- Биоремедиация ограничивается биоразлагаемыми соединениями;
- Биоремедиация плохо проходит на глинистых, компактных почвах, где кислород или питательные вещества трудно внести в почву;
- Процесс биоремедиации длится гораздо дольше, чем другие виды обработки, такие как выемка грунта, грунт и сжигание, могут быть необходимы для обеспечения контроля, институционализированного для долгосрочной защиты;
- Возможна дальнейшая миграция загрязняющего вещества и его перенос через окружающую среду [27].



## **2 Объект, материал и методика исследований**

### **2.1 Объект исследования**

Объектом моего исследования являются микроорганизмы, обитающие в почве, загрязненной тяжелыми металлами, которую я взял вблизи автотранспортных дорог, так как автомобили выделяют определенное количество газов, содержащих тяжелые металлы, которые оседают и проникают внутрь почвы.




### **2.2 Материал исследования**





Первый шаг моей работы – подготовка оборудования и лабораторной посуды, используя ГОСТ-25336-82.

Необходимое оборудование, питательные среды и лабораторная посуда для проведения исследования:

1. Термостат – техника, регулирующая температуру нагревания или охлаждения.
2. Ламинарный бокс – лабораторный прибор для работы с биологическими объектами в стерильных условиях.
3. Паровой стерилизатор – это устройство, предназначенное для самого распространенного типа стерилизации.
4. Чашки Петри (чаша для культивирования клеток) – это неглубокая прозрачная чаша с крышкой, которую биологи используют для хранения питательной среды.
5. Колбы объемом 500 мл.
6. Пробирки.
7. Дозатор – устройство, необходимое для автоматического отмеривания количества массы или объема вещества.
8. Электронные весы – высокоточный измерительный прибор.
9. Магнитная мешалка – это лабораторное устройство, которое использует вращающееся магнитное поле, чтобы заставить мешалку, погруженную в жидкость, вращаться очень быстро, тем самым перемешивая ее.
10. Питательные среды Агар, на которых и будет происходить культивирование микроорганизмов.
11. Биоактивированный гумусный препарат, содержащий бактерии. Биопрепарат для ускорения культивирования микроорганизмов.
12. Шпатель Дригальского – использовался для засева чашек Петри. Гладкая поверхность шпателя обеспечивает равномерный посев бактерий, микроорганизмов на чашках Петри без повреждения агара.

Таблица 2 – Оборудование, приборы и лабораторная посуда, необходимая для проведения работы.

Название оборудования/ прибора/лабораторной посуды	Характеристики	Фотография
1. Термостат ТС-1 СПУ	<p>Максимальный температурный диапазон термостатирования, °С от Токр +5 до +60.</p> <p>Размеры рабочей камеры, мм, не менее:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- длина 396</li> <li>- ширина 393</li> <li>- высота 496.</li> </ul> <p>Масса термостата, кг, без принадлежностей 36.</p> <p>Потребляемая мощность термостата, Вт, не более 250.</p> <p>Время установления рабочего режима при максимальной температуре в рабочей камере, мин, не более 120.</p>	
2. Ламинарный бокс ВО-120-РР-В	<p>Габаритные размеры, W x D x H: 1220 x 800 x 1500 мм.</p> <p>Размеры камеры 1135 x 600 x 640 мм.</p> <p>Скорость нисходящего потока 0,33 м / с, 60 кадров в минуту.</p> <p>Шум (проверено на расстоянии 20 см от рабочего стола, 1,2 м над землей) &lt;52dB.</p> <p>Схема воздушного потока 100% ВЫХЛОП.</p>	
3. Паровой стерилизатор ВК-75-01	<p>Рабочее давление пара в стерилизационной камере, МПа (кгс/см<sup>2</sup>), не более 0,22 (2,2).</p> <p>Габариты, мм:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- длина 740±50</li> <li>- ширина 570±50</li> <li>- высота 1070+50.</li> </ul> <p>Объем камеры, л – 75.</p> <p>Мощность, кВт – 8.</p> <p>Размеры стерилизационной камеры (диаметр x глубина), мм – 400x600.</p>	

4. Чашка Петри	Диаметр (d, мм): основание – 88,2-92 мм, крышка – 89,9 - 91,9 мм. Высота (h, мм): основание – 13,8-14,9 мм, с крышкой – до 16,2 мм. Материал полистирол.	
5. Колбы 500 мл.	Объем – 500 мл. Диаметр – 103 мм. Диаметр горла – 50 мм. Высота – 163 мм. Форма: плоскодонная.	
6. Пробирки	Пробирки способны выдерживать температуру от -15°C до +40°C Объем пробирок: 5, 14 и 15 мл. Диаметр пробирок: 12, 16 и 17 мм. Высота пробирок: 75, 95 и 100 мм.	
7. Дозатор	Автоклавируемость – частичная. Вмещаемый Объем – 0,5-10 мкл. Тип – одноканальный.	

8. Электронные весы.	НПВ – 120 г. Цена деления (d) – 0.00001 г. Калиброка внутренняя. Размер платформы 80 мм.	
9. Магнитная мешалка.	Объем загрузки от 0,2 л. Максимальная скорость вращения вала – 1500-2000 об/мин. Максимальная температура прогрева – 100-550°C.	
10. Шпатель Дригальского.	Шпатели Дригальского представляют собой литую палочку в форме буквы L, Т или треугольной формы. Длина составляет 100-200 мм, диаметр от 3,5 мм до 4 мм.	

Также, для проведения данного исследования, мной были использованы следующие материалы:

1. Биопрепарат «Дар плодородия» – концентрат биоактивированного гумусного удобрения. Класс опасности по ГОСТ 12.1.007 – 4 (малоопасное вещество). Содержит биоактивированные по макро- и микроэлементам и биоте БМВ гумусные вещества – до 30%. Макроэлементы – до 4% (азот, фосфор, калий). Микроэлементы – до 0,03% в хелатной и минеральной формах, также содержится полезная микрофлора.



Рис. 1 – Биопрепарат «Дар плодородия»

2. Питательная среда HiCrome Coliform Agar – среда обеспечивает рост колиформных бактерий. Питательная среда содержит в себе пептон специальный, хлорид натрия, натрия гидрофосфат, калия дигидрофосфат, натрия пируват, L-триптофан, натрия додецисульфат, хромогенная смесь, агар-агар.

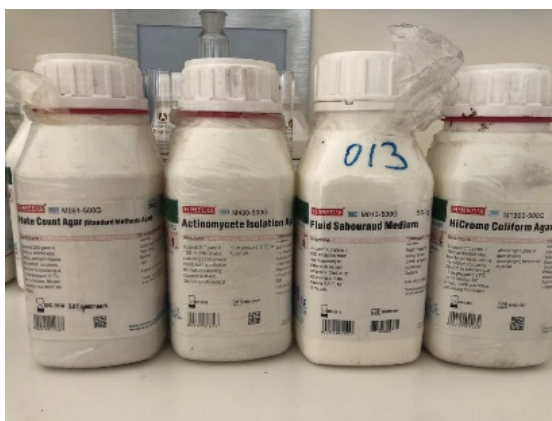


Рис. 2 – Питательные среды Agar.

### 2.3 Методика исследования

1. Методика отбора проб почвы проводилась по стандартам ГОСТ–17.4.4.02-2017 [<https://docs.cntd.ru/document/1200158951>]. Отбор проб производили вблизи автотранспортных дорог методом конверта.
2. Методика подготовки посуды проводилась согласно ГОСТ-25336-82 [<https://docs.cntd.ru/document/1200024082>].
3. Методика приготовления твердой питательной среды проводилась, используя ГОСТ ISO 11133-2016 [<https://docs.cntd.ru/document/1200141101>].
4. Методика стерилизации питательной среды была проведена по ГОСТ ISO/TS 11133-1-2014 [<https://docs.cntd.ru/document/1200112689>].
5. Методика разлива питательной среды предварительно перед посевом проводилась согласно ГОСТ ISO 7218-2015 [<https://docs.cntd.ru/document/1200124386>].
6. Методика разведения проводилась согласно ГОСТ 26670-91 [<https://docs.cntd.ru/document/1200021109>].
7. Методика посева микроорганизмов на питательную среду проводилась согласно ГОСТ 26670-91 [<https://docs.cntd.ru/document/1200021109>].

### 3 Проведение лабораторных исследований

Второй шаг в моей работы – отбор проб почвы. Отбор почвы был проведен по стандартам ГОСТ-17.4.4.02-2017, с глубины 5-20 см. Объединенная проба составлялась из трех точечных проб массой 200-250 г. каждая.

Далее почву я разделил на три чашки Петри для того, чтобы в каждую из них добавить биоактивированный гумусный препарат в разных количествах для дальнейшего исследования. В каждой чашке по 90 грамм почвы.



Рис.3 – Распределение почвы по чашкам Петри

Шаг третий – добавление биопрепарата. В чашку Петри №1 добавил 0,5гр. биопрепарата. В чашку Петри №2 добавил 1 г. биопрепарата. Чашка Петри №3 была без изменений (контрольная чашка).

Шаг четвертый – физико-химический анализ пробы почвы для обнаружения в ней тяжелых металлов. Анализ был проведен в лаборатории “Департамента агрохимических, почвенных обследований и комплексно-изыскательской работы”. В почве были обнаружены следующие металлы: цинк, молибден. Данные будут приведены ниже в таблице 9.

Далее я начал создавать питательную среду, используя ГОСТ ISO 11133-2016. Взяв колбы объемом 500мл. простерилизовал в автоклаве при температуре 120 градусов по Цельсию, согласно ГОСТ ISO/TS 11133-1-2014.

Для создания питательной среды был взят HiCrome Coliform Agar в объеме 6,75 г. Этот показатель был высчитан по инструкции, написанной на упаковке: на 1000 мл. воды необходимо добавить 27 г. Следовательно, используя пропорцию получаю следующее уравнение (1) откуда и получаем  $x=6,7$  г.

$$X = \frac{250 \times 27}{1000}, \quad (1)$$



Рис.4 – Питательная среда HiCrome Coliform Agar

Взвесив все на весах, отправил полученный порошок в колбу и залил дистиллированной водой в объеме 250 мл. Размешав полученную смесь, отправил ее снова в стерилизатор.

Следующим шагом было создание в ламинарном боксе питательной среды, то есть я переливал с колбы смесь в чашки Петри. Разлив питательной среды в чашки Петри проводили предварительно перед посевом согласно ГОСТ ISO 7218-2015. Далее ждал застывания приготовленной питательной среды и стерилизации ее в ламинарном боксе.



Рис.5 – Работа в ламинарном шкафу

Далее создаем раствор из 100 мл. воды и 1 г. почвы. Тщательным образом перемешиваем нашу смесь. Разведение проводили согласно ГОСТ 26670-91.



Для внесения микроорганизмов в питательную среду, выполнил следующие действия:

Берем дозатор набираем 1 мл. смеси из раствора воды и почвы. Выпускаем в пробирку №1. Разбавляем 9 мл. воды. Из данной консистенции набираем еще 1мл. раствора и выпускаем в пробирку №2. Также добавляем 9 мл. воды. Другим дозатором набираем с пробы №2 полученный раствор. И выпускаем каплю на нашу питательную среду. И шпателем Дригальского распределяем микроорганизмы по питательной среде, используя ГОСТ 26670-91. Далее питательные среды с микроорганизмами заносим в термостат при температуре 28 градусов по Цельсию на 12 часов. Через 12 часов образования колоний не обнаружено. Спустя еще 10-12 часов видны первые колонии микроорганизмов, описание которых записано в таблице №5.

Таблица 3 – Количественный учет микроорганизмов.

Опытная группа	Начало эксперимента		Конец эксперимента	
	Обсемененность		Обсемененность	
	$\bar{X} \pm m_x$ , КОЕ/г	$C_v$ , %	$\bar{X} \pm m_x$ , КОЕ/г	$C_v$ , %
<b>Опыт 1</b>	2,6±1,51	81,15	7,3±1,8	34,5
<b>Опыт 2</b>	3±1,89	88,3	11±2,56	32,7
<b>Контроль</b>	2±1,73	86,5	6,6±1,16	17,6

Таблица 4 – Скорость роста выделенных штаммов микроорганизмов на плотной питательной среде без добавления биопрепарата и с добавлением биопрепарата.

Опытная группа	Количество колоний		
	12ч.	24ч.	48ч.
<b>Время контроля</b>			
<b>Опыт 1</b>	0;3;5/7;10;5	3;5;5/20;24;12	300;320;334/384;396;372
<b>Опыт 2</b>	0;4;5/15;10;8	6;10;11/36;47;40	484;400;512/550;570;547
<b>Контроль</b>	0;3;3/8;6;6	4;8;10/14;18;8	280;254;267/310;280;240

Таблица 5 – Культуральные свойства микроорганизмов без добавления биопрепарата спустя 24 часа.

Культуральные свойства	24ч. после посева		
	Колония №1 (0,5г.)	Колония №2 (1г.)	Колония №3 (контр.)
<b>Форма</b>	круглая	круглая	круглая
<b>Размер</b>	точечный	точечный	точечный
<b>Прозрачность</b>	прозрачный	прозрачная	прозрачная
<b>Контур края</b>	гладкий	гладкий	гладкий
<b>Рельеф колонии</b>	бугристый	бугристый	бугристый
<b>Поверхность колоний</b>	гладкая	гладкая	гладкая
<b>Цвет</b>	белый	белый	желтоватый



Рис.6 – Проба №1 спустя 24 ч.



Рис.7 – Проба №2 спустя 24 ч.



Рис.8 – Проба №3 спустя 24 ч.

Таблица 6 – Культуральные свойства микроорганизмов без добавления биопрепарата спустя 48 часов.

Культуральные свойства	48ч. после посева		
	Колония №1 (0,5г.)	Колония №2 (1г.)	Колония №3 (контр.)
<b>Форма</b>	круглая	круглая	круглая
<b>Размер</b>	точечный	средний, точечный	точечный,средний
<b>Прозрачность</b>	прозрачные	прозрачные, пропускающие свет	пропускающие свет, мутные
<b>Контур края</b>	гладкий	волнистый, гладкий	волнистый,гладкий
<b>Рельеф колонии</b>	выпуклый	бугристый	бугристый
<b>Поверхность колоний</b>	гладкая	гладкая/шероховатая	гладкая
<b>Цвет</b>	белый	белый	белый, желтоватый
<b>Структура</b>	однородная	однородная/мелкозернистая	однородная



Рис.9 – Проба №1 спустя 48 ч.

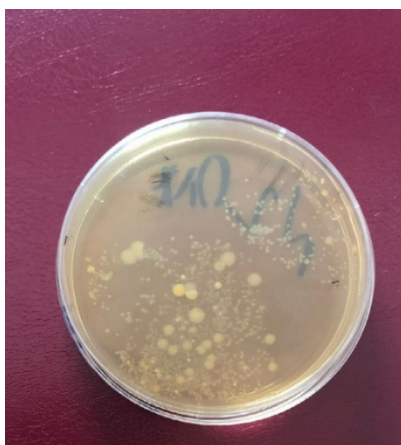


Рис.10 – Проба №2 спустя 48 ч.

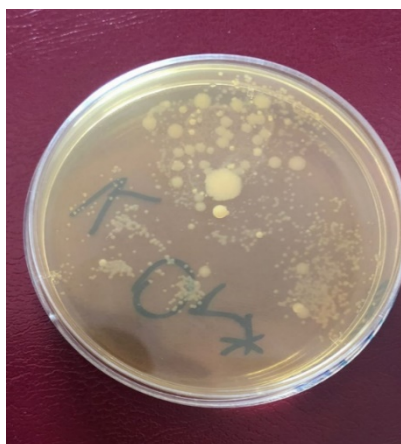


Рис.11 – Проба №3 спустя 48 ч.

Далее оставляем нашу почву с внесенным биопрепаратом на 5 дней, ежедневно освежая почву водой, чтобы она не засохла. Через 5 дней снова проделываем те же самые опыты с почвой. Создаем такую же питательную среду с добавлением микроорганизмов из раствора почвы и воды. Заносим нашу питательную среду с микроорганизмами в термостат при температуре 28 градусов по Цельсию.

Через 5 дней вновь смотрим результаты посева.



Рис.12 – Посев с добавлением биопрепарата(0,5г.) на 5-й день



Рис.13 – Посев с добавлением биопрепарата(1г.) на 5-й день



Рис.14 – Контрольный посев

Таблица 7 – Культуральные свойства микроорганизмов с добавлением биопрепарата через 12 часов.

Культуральные свойства	12ч. после посева		
	Колония №1 (0,5г.)	Колония №2 (1г.)	Колония №3 (контр.)
<b>Форма</b>	Круглая	круглая, ризоидная	круглая
<b>Размер</b>	точечные, мелкие	средний	точечный, мелкие
<b>Прозрачность</b>	пропускающие свет	мутные	пропускающие свет, мутные
<b>Контур края</b>	Гладкий	зубчатый, гладкий	гладкий
<b>Рельеф колонии</b>	Выпуклый	выпуклый	выпуклый
<b>Поверхность колоний</b>	Гладкая	гладкая, шероховатая	гладкая
<b>Цвет</b>	Белый	белый, желтоватые	белый
<b>Структура</b>	Однородная	однородная, волокнистая	однородная

Исходя из результатов опыта, я увидел, что с добавлением биопрепарата количество микроорганизмов в среде увеличилось уже в первые 12 часов наблюдений. Немного изменились характеристики колоний.

Таблица 8 – Культуральные свойства микроорганизмов с добавлением биопрепарата через 24 часа/48 часов.

Культуральные свойства	24ч./48ч. после посева		
	Колония №1 (0,5г.)	Колония №2 (1г.)	Колония №3 (контр.)
<b>Форма</b>	Круглая	круглая/круглая, ризоидная	круглая
<b>Размер</b>	мелкие/средние	средний/средний	точечный/мелкие
<b>Прозрачность</b>	пропускающие свет/мутные	мутные/мутные	пропускающие свет/мутные
<b>Контур края</b>	Гладкий	зубчатый/гладкий	гладкий
<b>Рельеф колонии</b>	Выпуклый	выпуклый	выпуклый
<b>Поверхность колоний</b>	Гладкая	гладкая, шероховатая	гладкая
<b>Цвет</b>	Белый	белый, желтоватые	белый
<b>Структура</b>	Однородная	однородная, волокнистая	однородная

Таблица 9 – Концентрация тяжелых металлов в почве до и после применения биопрепарата.

<b>Металл(мг/л)</b>	<b>Концентрация до применения биопрепарата(мг/л)</b>		
<b>№ пробы</b>	<b>Проба №1.</b>	<b>Проба №2.</b>	<b>Проба №3.</b>
Цинк	1,35	1,35	1,35
Молибден	1,8	1,8	1,8
	<b>Концентрация после применения биопрепарата(мг/л)</b>		
<b>№ пробы</b>	<b>Проба №1 (0,5г.)</b>	<b>Проба №2 (1г.)</b>	<b>Проба №3 (контр.)</b>
Цинк	0,48	0,31	0,79
Молибден	0,63	0,42	0,79

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из результатов исследования, данных в таблицах можно сказать, что добавление биопрепарата положительно повлияло на рост микроорганизмов, так как увеличилось число колоний, размер, а также скорость роста колоний. После проведенных физико-химических анализов на выявление тяжелых металлов стало понятно, что концентрация металла уменьшилась при применении биопрепарата “Дар плодородия”. Концентрация металлов в почвах, загрязненных тяжелыми металлами, уменьшилась на 25-30%. Значительное уменьшение концентрации тяжелых металлов связано с тем, что биопрепарат ускорил рост колоний микроорганизмов, способных к биоремедиации почвы. Также были изучены культуральные свойства микроорганизмов, а также их оптимальные условия для роста.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Демьянюк О.С., Партыка В.П., Шерстобоева Ю.В., Бунас А.А. Формирование структуры микробиоценоза почв агроэкосистем в зависимости от трофических и гидротермических факторов // Разнообразие биосистем. – 2018. – № 26. – С. 103-104.
2. И. Б. Ившина, Л. В. Костина, Т. Н. Каменских, В. А. Жукова, Т. В. Жукова и В. С. Безель. Микробиоценоз почвы как показатель устойчивости луговых сообществ в среде, загрязненной тяжелыми металлами // Российский экологический журнал. – 2014. – №45. – С.83.
3. Sabirov S.U., Mirzayev M. Biological products based on soil microorganisms and their study on various agricultural crops. // EPRA International Journal of Multidisciplinary Research (IJMR). – 2019. – Volume: 5, Issue 9. – P. 56.
4. Калугина, Т. С. Позняк, С. С. Специфические ответные реакции почвенного микробиоценоза в условиях антропогенной деградации почвенного покрова. // Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века. – Минск: ИВЦ Минфина, 2018. – С.140-141.
5. Demyanyuk, O. S., Patyka, V. P., Sherstoboeva, O. V., & Bunas, A. A. Formation of the structure of microbiocenoses of soils of agroecosystems depending on trophic and hydrothermal factors // Biosystems Diversity. – 2018. –26(2). – P. 103-110.
6. Chandra Sharma. PhysicoChemical Properties of Soils with Special Reference to Organic Carbon Stock under Different Land Use Systems in Dimoria Tribal Belt of Assam // IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS). – 2015. – Volume 8, Issue 3. – P. 32-36.
7. Prof. Man Park. Soils: Physics & Chemistry. – Almaty: KAZAKH NATIONAL AGRARIAN UNIVERITY. – 2015. – 231 p.
8. S.S. Kekane, R.P. Chavan, D.N. Shinde, C.L. Patil, S.S. Sagar. A review on physico-chemical properties of soil // International Journal of Chemical Studies. –2015. – №3. – P. 29-32.
9. Ambika Asati, Mohnish Pichhode and Kumar Nikhil. Effect of Heavy Metals on Plants: An Overview // International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management (IJAEM). – 2016. – Volume 5, Issue 3. – P.55-60.
10. Michaela Friedlova. The Influence of Heavy Metals on Soil Biological and Chemical Properties // Soil & Water Resources. – 2010. – №1. – P. 21-27.
11. Галина Анериевна Теплая. Тяжелые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (Обзор литературы) // Астраханский вестникэкологического образования. – 2013. – № 1(23). – С. 185-186.
12. Angamuthu Manikandan. Heavy metal pollution in soil // 2005. – P. 9-10.
13. Х.А. Джувеликян, Д.И. Щеглов, Н.С. Горбунова. Загрязнение почв тяжелыми металлами. Способы контроля и нормирования загрязненных почв // Издательско-

полиграфический центр Воронежского государственного университета. –Воронеж. – 2009. – 22 с.

14. Ekaterina Antonenko, Aleksandr Melnichuk, and Valentina Popovich. Environmental assessment of soil pollution by heavy metals within the boundaries of roadside areas // E3S Web of Conferences. – 2021. – №258. – P.2-3.

15. Magdalena Zaborowska, Jan Kucharski, Jadwiga Wyszowska. Biological activity of soil contaminated with cobalt, tin, and molybdenum // Environmental Monitoring and Assessment. – 2016. – №398. – P. 2-3.

16. А. В. Кузнецов, А. П. Фесюн, С. Г. Самохвалов, Э. П. Махонько. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции // Министерство сельского хозяйства Российской Федерации Центральный институт агрохимического обслуживания сельского хозяйства (ЦИНАО). – 1992. – издание 2-е, переработанное и дополненное изд. – Москва. – 63 с.

17. Ю. Н. Водяницкий, Д. В. Ладонин, А. Т. Савичев. Загрязнение почв тяжелыми металлами // Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. – 2012. – Москва. – 277 с.

18. G. U. Chibuike, S. C. Obiora. "Heavy Metal Polluted Soils: Effect on Plants and Bioremediation Methods" // Applied and Environmental Soil Science. – 2014. – vol. 2014, Article ID 752708. - 12 pages.

19. Dilna Damodaran, Gummadi Suresh, Raj Mohan. Bioremediation of soil by removing heavy metals using *Saccharomyces cerevisiae* // IPCBEE. – 2011. – Volume 6. – P. 23

20. Valentina Samokhvalova. Biological methods of remediation soil contaminated by heavy metals // Studia Biologica. – 2014. – №8. – P. 217-236.

21. Kumar, Naveen & Tyagi, Bhawna. Bioremediation: Principles and Application in Environmental Management, Toxicity, Mechanisms of Contaminants Degradation, Detoxification and Challenges. Elsevier. // ResearchGate. – 2020. – P. 4-5.

22. E.Eslami, S. H. S. Joodat. Bioremediation of oil and heavy metal contaminated soil in construction sites: a case study of using bioventing-biosparging and phytoextraction techniques // Houston: University of Houston. – 2018. – P. 4-5.

23. Prieto Méndez J, Acevedo Sandoval O.A, Prieto García F, Nallely Trejo González. Phytoremediation of soils contaminated with heavy metals // Biodiversity International Journal. – 2018. – Volume 2 Issue 4. – P. 362-376.

24. C.U. Emenike, B. Jayanthi, P. Agamuthu, S.H. Fauziah. Biotransformation and removal of heavy metals: a review of phyto and microbial remediation assessment on contaminated soil // Environmental Reviews. – 2018. – P. 20.

25. Akshata Jain N, Udayashankara T. H, Lokesh K. S. Review on Bioremediation of Heavy Metals with Microbial Isolates and Amendments on Soil Residue // International Journal of Science and Research (IJSR) . – 2014. – Volume 3 Issue 8. – P. 120.

26. Arpita Kulshreshtha, Ranu Agrawal, Manika Barar, Shilpi Saxena. A Review on Bioremediation of Heavy Metals in Contaminated Water // IOSR Journal of Environmental Science. – 2014. – Volume 8, Issue 7. – P. 47.

27. Gabriel-Alin Iosob, Maria Prisecaru, Ionuț Stoica, Maria Călin, Tina Oana Cristea. Biological remediation of soil polluted with oil products: an overview of available technologies // Research Gate. – 2016. – P. 91.

28. ГОСТ–17.4.4.02-2017 [<https://docs.cntd.ru/document/1200158951>].

29. ГОСТ-25336-82 [<https://docs.cntd.ru/document/1200024082>].

30. ГОСТ ISO 11133-2016 [<https://docs.cntd.ru/document/1200141101>].

31. ГОСТ ISO/TS 11133-1-2014 [<https://docs.cntd.ru/document/1200112689>].

32. ГОСТ ISO 7218-2015 [<https://docs.cntd.ru/document/1200124386>].

33. ГОСТ 26670-91 [<https://docs.cntd.ru/document/1200021109>].

34. ГОСТ 26670-91 [<https://docs.cntd.ru/document/1200021109>].

## РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Алимжанова Олжаса Данияровича

5B070100 – «Биотехнология»

На тему: «Биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами»

Выполнено:

- а) графическая часть на 2 листах
- б) пояснительная записка на 30 страницах

### ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Дипломная работа Алимжанова О.Д. посвящена биоремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами. Актуальность темы состоит в накоплении тяжелых металлов в почве, а также окружающей среде, что способствует ухудшению экологических аспектов, помимо этого, усугубляет угрозу для здоровья людей и животных. Ежегодный рост концентрации тяжелых металлов в почвах является актуальной проблемой для правительственных и регулирующих органов. Новизна работы заключается в использовании биопрепарата «Дар плодородия», который стимулирует рост микроорганизмов, способствующих биоремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

Работа Алимжанова Олжаса состоит из введения, 3 глав, заключения, списка научной литературы. Оформление и содержание дипломной работы соответствует требованиям к выпускным работам бакалавров и отвечает принятым стандартам. Во введении отмечены цели, задачи и актуальность выполняемой работы. Первая глава состоит из литературного обзора, в котором в полном объеме освещена информация о микробиоценозе почв, о тяжелых металлах, которые загрязняют почву, а также о методах очистки почв.

В экспериментальной части описан метод очистки почв, загрязненных тяжелыми металлами благодаря биопрепарата «Дар плодородия», также включены результаты физико-химических анализов, подтверждающих содержание металлов в образцах почвы.

Отмечая положительные стороны дипломной работы, следует подчеркнуть достоверность полученных экспериментальных данных, обоснованность выводов и заключения.

### Оценка работы

Дипломная работа Алимжанова Олжаса является целостным законченным исследованием в одной из актуальных отраслей биотехнологии.

Прослеживается тщательная работа по каждому разделу рассматриваемой темы. Полностью раскрыта тема работы, достигнута поставленная цель, решены поставленные задачи. Использованный материал достоверен, сделанные выводы обоснованы, рекомендации имеют практическую значимость. Работа выполнена в соответствии ГОСТа. Она актуальна, полна, качественна. Существенных недостатков работа не имеет. В связи с этим, дипломная работа заслуживает оценки «отлично», а ее автор заслуживает присуждение академической степени бакалавра по специальности биотехнология.

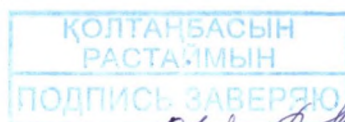
### Рецензент

к.б.н. профессор кафедры биотехнологии  
факультета биологии и биотехнологии  
КазНУ им. А.Н. Фараби



Атамбаева Ш.А.

2022 г.



*Ш.А. Атамбаева*

### Отзыв руководителя

на дипломную работу Алимжанова Олжаса Данияровича.

студента кафедры ХиБТ.

специальность: Биотехнология – 5В070100

на тему: “Биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами”

### Основные замечания по дипломной работе и характеристика студента

Темой дипломной работы Алимжанова Олжаса является Биоремедиация почв, загрязненных тяжелыми металлами.

Алимжанов Олжас проанализировал работы по ремедиации почв, загрязненных не только тяжелыми металлами, но и другими различными загрязнителями. На основе научной и научно-методической литературы был предложен подход для биоочистки почвы, загрязненной тяжелыми металлами. Данная работа заключается в проведении лабораторных и научных исследований в методологии очистки почвы. Дипломная работа написана на основе современных статистических данных и статей ученых, авторитетных в данной области.

Хотелось бы отметить, что Алимжанов Олжас в ходе выполнения дипломной работы осуществил глубокое изучение литературного материала, применив полученные теоретические знания на практике для выявления наиболее эффективного метода биоремедиации почвы, загрязненной тяжелыми металлами.

### Оценка дипломной работы

Дипломная работа Алимжанова Олжаса выполнена на высоком научном уровне. В целом полно и точно раскрыта тема дипломной работы. Значительных недостатков обнаружено не было. Работа допускается к защите. Рекомендуемая оценка – «отлично».

### Научный руководитель

Доктор Ph.D., сеньор-лектор кафедры ХТОВИП

 Рафикова Х.С.

(подпись)

" 30 " 05 2022 г.



## Метаданные

Название

**2022-БАК-Алимжанов Олжас2.docx**

Автор

**Алимжанов Олжас**

Научный руководитель






**Хадичахан Рафикова**

Подразделение

**ИГИНГД**

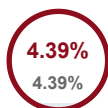
## Список возможных попыток манипуляций с текстом

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		1
Интервалы		0
Микропробелы		22
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		23

## Объем найденных подобиий

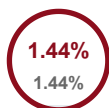
Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



КП1

**25**

Длина фразы для коэффициента подобия 2



КП2

**5265**

Количество слов



КЦ

**40677**

Количество символов

## Подобия по списку источников

Просмотрите список и проанализируйте, в особенности, те фрагменты, которые превышают КП №2 (выделенные жирным шрифтом). Используйте ссылку «Обозначить фрагмент» и обратите внимание на то, являются ли выделенные фрагменты повторяющимися короткими фразами, разбросанными в документе (совпадающие сходства), многочисленными короткими фразами расположенные рядом друг с другом (парафразирование) или обширными фрагментами без указания источника ("криптоцитаты").

### 10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	<a href="https://www.webkursovik.ru/kartgotrab.asp?id=-136871">https://www.webkursovik.ru/kartgotrab.asp?id=-136871</a>	51	0.97 %
2	<a href="https://sert-service.ru/chashki-petri-chbn-90-gost-23932-90/">https://sert-service.ru/chashki-petri-chbn-90-gost-23932-90/</a>	25	0.47 %
3	<a href="http://tdvh.ru/catalog/udobreniya/?PAGEN_1=5">http://tdvh.ru/catalog/udobreniya/?PAGEN_1=5</a>	24	0.46 %
4	<a href="https://www.dia-m.ru/catalog/plastic/shpateli-drigalskogo/">https://www.dia-m.ru/catalog/plastic/shpateli-drigalskogo/</a>	24	0.46 %
5	<a href="http://www.penzgtu.ru/fileadmin/filemounts/science/dis_sovet/referats/KazakovaHA_Диссертация.pdf">http://www.penzgtu.ru/fileadmin/filemounts/science/dis_sovet/referats/ КазаковаНА_Диссертация.pdf</a>	22	0.42 %

6	<a href="https://www.dia-m.ru/catalog/plastic/shpateli-drigalskogo/">https://www.dia-m.ru/catalog/plastic/shpateli-drigalskogo/</a>	15	0.28 %
7	<a href="https://ru.abcdef.wiki/wiki/Magnetic_stirrer">https://ru.abcdef.wiki/wiki/Magnetic_stirrer</a>	13	0.25 %
8	Биоремедиация нефтезагрязненных почв с помощью препарата «Актобе- деструктор» 5/15/2018 Satbayev University (ИХИБТ)	12	0.23 %
9	Биоремедиация нефтезагрязненных почв с помощью препарата «Актобе- деструктор» 5/15/2018 Satbayev University (ИХИБТ)	12	0.23 %
10	<a href="http://medecocenter.by/sterilizator-parovoy-avtomaticheskij-gk-100-szmo">http://medecocenter.by/sterilizator-parovoy-avtomaticheskij-gk-100-szmo</a>	12	0.23 %

#### из базы данных RefBooks (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

#### из домашней базы данных (0.46 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	Биоремедиация нефтезагрязненных почв с помощью препарата «Актобе- деструктор» 5/15/2018 Satbayev University (ИХИБТ)	24 (2) 0.46 %

#### из программы обмена базами данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

#### из интернета (3.93 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	<a href="https://www.webkursovik.ru/kartgotrab.asp?id=-136871">https://www.webkursovik.ru/kartgotrab.asp?id=-136871</a>	51 (1) 0.97 %
2	<a href="https://www.dia-m.ru/catalog/plastic/shpateli-drigalskogo/">https://www.dia-m.ru/catalog/plastic/shpateli-drigalskogo/</a>	39 (2) 0.74 %
3	<a href="http://tdvh.ru/catalog/udobreniya/?PAGEN_1=5">http://tdvh.ru/catalog/udobreniya/?PAGEN_1=5</a>	30 (2) 0.57 %
4	<a href="https://sert-service.ru/chashki-petri-chbn-90-gost-23932-90/">https://sert-service.ru/chashki-petri-chbn-90-gost-23932-90/</a>	25 (1) 0.47 %
5	<a href="http://www.penzgtu.ru/fileadmin/filemounts/science/dis_sovet/referats/KazakovaNA_Диссертация.pdf">http://www.penzgtu.ru/fileadmin/filemounts/science/dis_sovet/referats/KazakovaNA_Диссертация.pdf</a>	22 (1) 0.42 %
6	<a href="https://ru.abcdef.wiki/wiki/Magnetic_stirrer">https://ru.abcdef.wiki/wiki/Magnetic_stirrer</a>	13 (1) 0.25 %
7	<a href="http://medecocenter.by/sterilizator-parovoy-avtomaticheskij-gk-100-szmo">http://medecocenter.by/sterilizator-parovoy-avtomaticheskij-gk-100-szmo</a>	12 (1) 0.23 %
8	<a href="http://rmebrk.kz/journals/4380/50323.pdf">http://rmebrk.kz/journals/4380/50323.pdf</a>	10 (1) 0.19 %
9	<a href="https://stal-kom.ru/tri-klassa-opasnosti-tyazhelykh-metallov/">https://stal-kom.ru/tri-klassa-opasnosti-tyazhelykh-metallov/</a>	5 (1) 0.09 %

#### Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---