

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К. И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Жаубасар Мөлдір Нұржігітқызы

Физико-химические и микробиологические основы очистки почв, загрязненных
нефтепродуктами

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

Специальность 5В070100 – Биотехнология

Алматы 2022

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К. И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

ДОПУЩЕНА К ЗАЩИТЕ

Заведующая кафедрой
«Химическая и
биохимическая инженерия»
доктор Ph.D.
А. А. Амитова
«31» 05 2022 г.



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

на тему: «Физико-химические и микробиологические основы очистки почв,
загрязненных нефтепродуктами»

по специальности 5В070100 – Биотехнология

Выполнила

М.Н. Жаубасар

Рецензент
кандидат биологических наук,
доцент
Садваксова А. К.
«31» 05 2022 г.



Научный руководитель
Ph.D., ассоц. профессор
Х. С. Рафикова
«30» 05 2022 г.

Алматы 2022

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени
К. И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

5В070100 – Биотехнология

УТВЕРЖДАЮ

Заведующая кафедрой
«Химическая и
биохимическая инженерия»
доктор Ph.D.
А. А. Амитова
«30» 2022 г.



ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающейся Жаубасар Мөлдір Нұржігітқызы

Тема: Физико-химические и микробиологические основы очистки почв, загрязненных нефтепродуктами

Утверждена приказом проректора по академическим вопросам № 489 –П/Ө от 24.12.2021 г.

Срок сдачи законченной работы 20 мая 2022 г.

Исходные данные к дипломной работе: почва, загрязненная нефтепродуктами

Краткое содержание дипломной работы:

- а) литературный обзор;*
- б) экспериментальная часть;*
- в) результаты и обсуждение экспериментальных данных.*

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей): представлены 9 слайдов презентации работы.

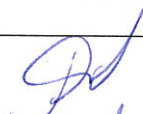

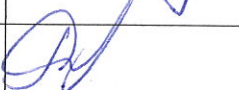
Рекомендуемая основная литература состоит из 26 наименований

ГРАФИК
подготовки дипломной работы (проекта)

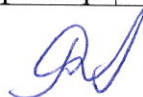
Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Литературный обзор, изучение методов очистки почвы, загрязненной нефтепродуктами	20.03.2022	
Экспериментальная часть, материалы, объект и методика исследования	28.04.2022	
Обсуждение результатов	10.05.2022	
Оформление работы	15.05.2022	

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
Литературный обзор	Х. С. Рафикова, доктор Ph.D., асоц. профессор	20.03.2022	
Экспериментальная часть	Х. С. Рафикова, доктор Ph.D., асоц. профессор Г. А. Джамалова, канд.с.-х. наук, асоц. профессор Г. А. Сериков, MSc, тьютор	28.04.2022	
Нормоконтролер	Х. С. Рафикова, доктор Ph.D., асоц. профессор	20.05.2022	

Научный руководитель



Х.С. Рафикова

Задание приняла к исполнению обучающаяся



М.Н. Жаубасар

Дата

" 30 " 05 2022 г.

АННОТАЦИЯ

Объем дипломной работы составляет 31 страницы и включает: введение, литературный обзор, материалы, объект и методику исследования, экспериментальную часть, заключение и перечень использованной литературы. Содержит 14 рисунков и 4 таблицы. Для написания проекта использовано 26 литературных источников.

В данном дипломном проекте представлены теоретические основы физико-химической и биологической очистки почв, загрязненных нефтепродуктами. Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами является реальной мировой проблемой, вследствие чего очистка почв от представленных выше загрязняющих веществ является актуальной темой для исследования.

Целью данной работы является очистка загрязненной нефтепродуктами почвы биологическим методом.

Задачи:

- определение общего количества микроорганизмов посевом на питательную среду;
- построение кинетической кривой роста микроорганизмов;
- изучение культуральных свойств микроорганизмов, выращенных на питательной среде;
- получение результатов химического анализа загрязненной почвы.

Научная новизна исследования. Впервые были исследованы культуральные свойства штаммов микроорганизмов, выделенных из почвы на территории города Алматы возле автозаправочной станции.

Ключевые слова: почва, нефтепродукты, очистка, загрязнение нефтепродуктами, микроорганизмы.

АНДАТПА

Дипломдық жұмыстың көлемі 31 беттен тұрады және келесі бөлімдерді қамтиды: кіріспе, әдеби шолу, материалдар, зерттеу нысаны мен әдістемесі, эксперименттік бөлім, қорытынды және пайдаланылған әдебиеттер тізімі. Дипломдың мәтіні 14 суреттен және 4 кестеден тұрады. Жобаны жазу үшін 26 әдеби дерек пайдаланылды.

Бұл дипломдық жоба мұнай өнімдерімен ластанған топырақты физикалық-химиялық және биологиялық тазартудың теориялық негіздерін ұсынады. Қоршаған ортаның мұнай және мұнай өнімдерімен ластануы нақты әлемдік проблема болып табылады, соның салдарынан топырақты жоғарыда көрсетілген ластаушы заттардан тазарту зерттеу үшін өзекті тақырып болып табылады.

Жұмыстың мақсаты. Мұнай өнімдерімен ластанған топырақты биологиялық әдіспен тазарту.

Міндеттері:

- микроорганизмдердің жалпы санын анықтау;
- микроорганизмдердің өсу графигін құру;
- осы топырақтан оқшауланған микроорганизмдер колонияларының культуралық дақылдықтарын зерттеу;
- ластанған топырақты химиялық талдау нәтижелерін алу.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы. Алғаш рет Алматы қаласы аумағындағы авто жанармай құю станциясының жанындағы топырақтан бөлінген микроорганизмдер штамдарының культуралық дақылдықтары зерттелді.

Түйінді сөздер: топырақ, мұнай өнімдері, тазарту, мұнай өнімдерімен ластану, микроорганизмдер.

ABSTRACT

The scope of the diploma project is 31 pages and includes: introduction, literary review, materials, object and methodology of research, experimental part, conclusion and list of references. It contains 14 figures and 4 tables. 26 literary sources were used to write the project.

This diploma project presents the theoretical foundations of physico-chemical and biological purification of soils contaminated with petroleum products. Environmental pollution by oil and petroleum products is a real global problem, as a result of which the purification of soils from the pollutants presented above is an urgent topic for research.

The purpose of this work is to clean the soil contaminated with petroleum products using a biological method.

Tasks:

- determination of the total number of microorganisms;
- plotting the growth rate of microorganisms;
- study of the cultural properties of microorganisms;
- obtaining the results of chemical analysis of contaminated soil.

Scientific novelty of the research. For the first time, the cultural properties of microorganisms isolated from the soil on the territory of the city of Almaty near a petrol station were investigated.

Keywords: soil, petroleum products, purification, pollution with petroleum products, microorganisms.

СОДЕРЖАНИЕ

	Введение	9
1	Литературный обзор	10
1.1	Нефть и важнейшие нефтепродукты	10
1.2	Влияние нефти и нефтепродуктов на почву	11
1.3	Методы очистки почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами	12
1.3.1	Биологические методы очистки почв	13
1.3.1.1	Биоремедиация	13
1.3.1.2	Фиторемедиация	13
1.3.1.3	Биовентиляция	14
1.3.1.4	Роль микроорганизмов в биоремедиации	14
1.3.2	Физико-химические методы очистки почв	16
1.3.2.1	Промывка почвы	16
1.3.2.2	Экстракция растворителями	16
1.3.2.3	Термическая десорбция	17
1.3.2.4	Сорбция	17
2	Материалы, объект и методика исследования	18
2.1	Объект исследования	18
2.2	Материалы и оборудование	18
2.3	Методики исследования	21
2.3.1	Методика отбора проб почвы	21
2.3.2	Методика культивирования микроорганизмов	21
3	Экспериментальная часть	23
	Заключение и выводы	28
	Список использованной литературы	29

ВВЕДЕНИЕ

Выброс загрязняющих веществ наносит серьезный вред всем формам жизни в связи с растущей глобальной индустриализацией. Загрязнение экологически вредными веществами, такие как нефть и нефтепродукты, тяжелые металлы и пестициды, оказывает неблагоприятное воздействие на окружающую среду.

Нефть и нефтепродукты относятся к наиболее распространенному классу загрязняющих веществ, что связано с их колоссальными объемами производства [1]. Начиная с их добычи и заканчивая производством, транспортировкой, использованием конечными пользователями, утилизацией или случайными разливами, они часто загрязняют водную среду, атмосферу, почву до такой степени, что угрожают здоровью людей, домашнего скота, дикой природы и даже целых экосистем.

Очистка окружающей среды от этих загрязняющих веществ является реальной мировой проблемой, вследствие чего является актуальной темой для исследования. Даже небольшая утечка может нанести значительный ущерб. Поэтому очень важно контролировать загрязнение нефтью в различных средах, а также восстанавливать участки, загрязненные нефтью и нефтепродуктами.

Попадание их в почву приводит к изменению ее физических, химических и микробиологических свойств, деформирует структуры биоценозов, нарушает экологическую безопасность территории [2].

Поэтому целью дипломной работы является удаление нефтезагрязнения почвы.

Для ее достижения потребуется выполнение намеченных задач:

- выделение и подсчет количества штаммов микроорганизмов при добавлении биопрепаратов в почву;
- построение графика скорости роста колоний микроорганизмов;
- изучение их культуральных свойств;
- получение результатов анализа о содержании нефтепродуктов в почве;

Научная новизна исследования состоит в том, что в работе впервые были выделены штаммы микроорганизмов из почвы на территории города Алматы возле автозаправочной станции (Радостовца, 119) в процессе ее очистки от нефтепродуктов.

1 Литературный обзор

1.1 Нефть и важнейшие нефтепродукты

Нефть – природная маслянистая горючая жидкость со специфическим запахом, состоящая в основном из сложной смеси углеводородов различной молекулярной массы и других химических соединений. Является важнейшим полезным ископаемым. Состоит из различных углеводородов (алканов, циклоалканов, аренов – ароматических углеводородов – и их гибридов) и соединений, содержащих, помимо углерода и водорода, гетероатомы – кислород, серу и азот. По химическому составу нефть разнообразна. Поэтому говорить о ее среднем составе можно только условно [3].

Нефтепродукты являются результатом химических процессов, которые изменяют молекулярную природу отдельных частей сырой нефти. Другими словами, они являются продуктами переработки [4]. Американский институт нефти сообщил, что ежегодно в мире производится более 2000 нефтепродуктов, но при проектировании нефтеперерабатывающих заводов учитывается лишь небольшое количество основных продуктов [5].

Основными продуктами нефтеперерабатывающих заводов являются следующие [5]:

- Легкие топливные газы, состоящие из водорода, монооксида углерода и углеводородных газов, используются в качестве промышленного топлива и сырья в нефтехимической промышленности;
- Сжиженный нефтяной газ, включая пропан и бутан, и их смесь, используемый в качестве бытового топлива или промышленного топлива;
- Различные виды бензина, используемого в качестве топлива для автомобилей, компрессорах, электрогенераторах;
- Реактивное топливо и турбинное топливо, используемое в реактивных двигателях, газовых турбинах и ракетах;
- Керосин, используемый в различных лампах для целей освещения и для выработки тепла;
- Дизельное топливо и легкое дизельное топливо, используемое в качестве топлива в бытовых отопительных установках или на промышленных объектах малой мощности;
- Легкие масла, используемые как в качестве базовых масел при производстве моторных масел, так и в качестве смазки в швейных машинах, велосипедах;
- Тяжелые масла, используемые в качестве базовых масел с высокой вязкостью при производстве моторных масел;
- Парафины и воски, используемые в электроизоляции и для консервирования пищевых материалов;
- Тяжелые топливные масла, используемые в качестве топлива в мощных отопительных установках и в больших дизельных двигателях;
- Асфальт и гудрон, используемые в дорожном строительстве;

– Кокс, используемый в качестве промышленного топлива, а также при производстве электродов.

1.2 Влияние нефти и нефтепродуктов на почву

Почва является жизненно важной частью природной среды. Это сложная система, покрывающая земную кору на высоте от нескольких сантиметров до нескольких метров, состоящая из минеральных и органических веществ. Она содержит не только органические вещества, которые улучшают структуру почвы и удерживают влагу в ней, но и ряд микроорганизмов, поддерживающих рост растений. Контролирует поток воды и химических веществ между атмосферой и землей и действует как источник и хранилище газов в атмосфере. Почва отражает не только природные процессы, но и деятельность человека как в настоящем времени, так и в прошлом [6].

Несмотря на то, что она является конечным поглотителем всех загрязняющих веществ, ею долгое время пренебрегали, что негативно сказалось на качестве почвы.

Частые разливы сырой нефти и нефтепродуктов на сельскохозяйственных почвах и последующее их воздействие, а также очистка приводит к изменению свойств почв. Вследствие чего почва становится токсичной и непродуктивной. Присутствие тяжелых металлов, пестицидов, полихлорированных дифенилов и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) влияет на все формы жизни, поскольку эти химические вещества обладают токсичностью, мутагенностью и канцерогенностью. ПАУ могут проникать в организм людей и животных через воздушные потоки и при контакте с кожей, ухудшая при этом нормальную функцию печени, почек и других органов. Вследствие чего подвергает риску здоровье человека [7].

Площадь земель, загрязненных нефтепродуктами и нефтью, увеличивается, и уровень загрязнения становится все более серьезным. Вред загрязнения нефтью и нефтепродуктами почвы в основном включает следующие аспекты [8]:

– из-за малой плотности, более высокой вязкости и более низкой эмульгирующей способности нефти она легко впитывается почвой, влияя на проницаемость и пористость почвы. Также нефть богата углеродом и небольшим количеством соединений азота, поэтому это может привести к изменению состава и структуры почвы и повлиять на содержание углерода, азота, фосфора, соленость, рН, ЕН почвы;

– микроорганизмы, которые могут противостоять стрессу нефтяного загрязнения, не развиваются, в то время как в загрязненной почве, чтобы адаптироваться к такой среде, они могут вырабатывать определенную ферментную систему и постепенно формировать доминирующую популяцию;

– препятствует нормальному росту сельскохозяйственных культур. Поскольку снижает их всхожесть, плодородие, устойчивость к вредителям и болезням.

1.3 Методы очистки почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами

Рекультивация земель – восстановление продуктивности земель, ставших бесплодными в результате деятельности человека [3]. Ее целью является снижение концентрации до безопасного уровня или полного удаления не только нефти и нефтепродуктов, но других токсичных веществ. Так как нефть является токсичным продуктом, она отрицательно влияет на живые организмы и приносит им вред. Согласно ГОСТ Р 51858–2002 [9]:

- при транспортировке и отборе проб ее относят к 3 классу опасности (умеренно опасные вещества);
- при хранении и в ходе лабораторных исследований относят к 4 классу опасности (малоопасные вещества);
- в соответствии с пожарной опасностью относят к 3 классу опасности (легковоспламеняющиеся жидкости);
- если массовая доля сероводорода превышает 20 млн^{-1} , то нефть относится к 2-му классу опасности (высоко опасным веществам).

В РК согласно «Гигиеническим нормативам к безопасности окружающей среды (почве)» предельно допустимые концентрации установлены только для бензапирена – $0,02 \text{ мг/кг}$, ксилола – $0,3 \text{ мг/кг}$, стирола – $0,1 \text{ мг/кг}$. И если ПДК превышает более 25 мг/дм^3 , то загрязнение химическими веществами, в том числе нефтью и нефтепродуктами, относится к 3 классу опасности и является экологическим бедствием.

В настоящее время для ликвидации почвенных загрязнений нефтью и нефтепродуктами широко применяют методы, которые можно разделить на [10]:

- биологические,
- механические,
- физико-химические.

В последние десятилетия актуально использование биологических методов. Основная причина использования этих методов связана с их различными преимуществами. Биоремедиация использует микроорганизмы для уменьшения или разрушения опасных органических материалов до безвредных соединений, таких как углекислый газ и вода. Растения и их взаимодействие с микроорганизмами также могут способствовать разложению или рассеиванию органических загрязнителей в загрязненной среде. Обычно биологические методы безопасны для окружающей среды и сохраняют целостность окружающей среды в процессе восстановления.

Кроме того, эти методы дешевле, чем физико-химические методы, используемые для восстановления. При этом помогают с решением такой проблемы, как вторичное загрязнение. Потому что процесс разрушения токсичных ксенобиотиков проводится без накопления вредных вторичных продуктов.

Несмотря на интерес к биоремедиации, остаются неопределенности в отношении эффективности конкретных соединений на окружающую среду.

Токсичность загрязняющих веществ для микроорганизмов и растений, используемых в биологических методах, может снизить эффективность рекультивации. Кроме того, микроорганизмам и растениям требуется длительный период времени для разложения органических загрязнителей.

1.3.1 Биологические методы очистки почв

1.3.1.1 Биоремедиация

Биоремедиация – процесс, с помощью которого живые существа, такие как растения, водоросли, черви и микроорганизмы, используются для уменьшения или удаления загрязняющих веществ из окружающей среды.

Углеводороды могут расщепляться микроорганизмами и растениями на более экологически чистые продукты или превращаются другими видами микроорганизмов в диоксид углерода, биомассу и водорастворимые и другие соединения [11].

Биоремедиация почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, является высокоэффективной, но для ее завершения все еще требуется время, от нескольких недель или даже лет.

Существует множество причин, по которым органические загрязнители не могут быстро разлагаться при попадании в почвенную среду – высокие концентрации загрязняющих веществ, ограниченное количество акцепторов электронов, недостаточное поступление питательных веществ и неблагоприятные условия окружающей среды, такие как влажность, температура, pH, ионная сила или окислительно-восстановительный потенциал [12]. В зависимости от типа применения биоремедиацию можно классифицировать на [13]:

– ex-situ (с изъятием грунта). Процесс основан на изъятии загрязненной почвы и ее очистке за пределами участка загрязнения. Несмотря на то, что такой процесс биоремедиации обычно дороже из-за затрат на раскопки и транспортировку, он может применяться для удаления большего количества загрязняющих веществ в контролируемых условиях;

– in-situ (без изъятия грунта). Очистка почвы от загрязняющего вещества происходит без ее удаления из загрязненного участка. Хотя и является простым для реализации, более дешёвым, создает меньше запыления воздуха и высвобождает меньше летучих загрязняющих веществ, но невозможно увидеть и провести эффективный контроль над поверхностью загрязненной территории.

1.3.1.2 Фиторемедиация

Фиторемедиация является методом очистки от поллютантов с использованием растений на загрязненных участках. В зависимости от типа

загрязнителя, это происходит с помощью различных механизмов [14]. Элементарные загрязнители, такие как тяжелые металлы и радиоактивные элементы, в основном извлекаются, преобразуются и изолируются, в то время как органические загрязнители удаляются в основном путем ризодеградации, биodeградации, испарения или фитостабилизации.

Фиторемедиация является экологически чистым, менее дорогим и потребляющим меньше энергии методом. Поэтому во многих зарубежных исследованиях изучалась фиторемедиация органических загрязнителей, таких как полиароматические углеводороды, полихлорированные дифенилы и углеводороды с использованием различных видов растений в Европе и Северной Америки: итальянский райграс, сорго, кукуруза и люцерна, бермудская трава, подсолнечник, южная крабовая трава, красный клевер [15].

1.3.1.3 Биовентиляция

Биовентиляция включает контролируемую стимуляцию воздушного потока, обеспечивающего кислород через нагнетательные или добывающие скважины для повышения микробной активности и, следовательно, усиления аэробной биоремедиации. Во многих почвах эффективная диффузия кислорода для желательных скоростей биоремедиации простирается в диапазоне от нескольких сантиметров до примерно 30 см в почву. Однако биовентиляция может быть применена для биоремедиации почвы глубиной 60 см и более. Данная методика успешно применяется при рекультивации почв, загрязненных нефтепродуктами [14].

1.3.1.4 Роль микроорганизмов в биоремедиации

Благодаря своей высокой скорости адаптации микроорганизмы обитают даже в самых неблагоприятных средах. Питательная способность микроорганизмов полностью разнообразна, поэтому она используется в биоремедиации загрязняющих веществ окружающей среды.

После попадания в почвенную среду нефтяные загрязнители могут трансформироваться и разлагаться 3 естественными путями, а именно улетучиванием в атмосферу, самоокислением и разложением, которое в основном включает биodeградацию, фотолиз и механическое разложение, что является очень медленным процессом. Конечным пунктом назначения нефти в окружающей среде в основном является микробиологическая деградация. Когда нефтяные углеводороды попадают в окружающую среду, различные микроорганизмы участвуют в их биodeградации. Так как они поглощают нефть и нефтепродукты в качестве питательных веществ и превращают ее в органические компоненты. Остальное окисляется и разлагается на простые

органические или неорганические вещества, такие как метан, углекислый газ и вода.

Нефть и нефтепродукты, попадая в клетки микроорганизмов, разлагаются в результате 3 процессов ассимиляции: аэробного дыхания, анаэробного дыхания и ферментации. Это очень сложный процесс. В аэробных условиях молекулярный кислород объединяется в матрицу под действием катализатора оксигеназы с образованием кислородсодержащих промежуточных продуктов, которые затем превращаются в другие вещества.

Поскольку нефть представляет собой смесь различных углеводородов, ее разложение может быть осуществлено только за счет совместного действия множества микроорганизмов, которые имеют различные метаболические пути и механизмы для различных углеводородных соединений нефти и нефтепродуктов [16]. Поэтому для использования микроорганизмов в процессе очистки предъявляются определенные требования [17]:

- должны быть получены из среды, предпочтительно подвергнутой биоремедиации загрязненного участка;
- не быть результатом генетических манипуляций;
- не являться патогенными или токсичными;
- проявлять метаболическую гибкость;
- развиваться за счет загрязняющего агента, исчезающего с его полной минерализацией;
- интегрировать естественные условия среды обитания, не влияя на биологический баланс;
- не вызывать нежелательных последствий, противоречащих законам и правилам охраны окружающей среды.

Существует множество микроорганизмов, которые были выделены и использованы в качестве биodeградирующих веществ для утилизации углеводородов [18]:

- бактерии (*Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и другие);
- цианобактерии (*Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria*);
- дрожжи (*Candida*, *Rhodotorula*, *Sachar*);
- грибы (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*);
- водоросли (*Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Dunaliella* и другие).

В исследовании, проведенном итальянскими учеными были выделены штаммы бактерии и грибы, разлагающих углеводороды. Они оценили молекулярными методами эволюцию бактериальных и грибковых сообществ при селективном обогащении различными загрязнителями почвы, сильно загрязненной смесями алифатических и полициклических углеводородов (бензол, парафин, пирен, нафталин, фенантрен и сырая нефть). Для роста бактерий и грибов использовались две минеральные среды: минеральная среда M9 (Difco, Sparks, MD, США) для бактерий и Czapek для грибов. Колбы инкубировали на вращающемся шейкере при 30°C и 180 об / мин для бактерий и при 24°C и 120 об / мин для грибов. Через 7 дней 5 мл культуры переносили в

другую колбу с минеральной средой и соответствующим целевым поллютантом, как единственным источником углерода. В общей сложности 95 бактериальных и 94 грибковых штаммов были выделены после процедуры селективного обогащения на различных загрязнителях. В целом, выявили присутствие бактерий рода *Pseudomonas*, за которым следуют *Sphingobacterium*, *Bacillus*, *Stenothrophomonas*, *Achromobacteru Serratia*. Что касается грибов, *Fusarium* был наиболее распространенным родом, за которым следовали *Trichoderma* и *Aspergillus*.

Хотя водоросли и играют важную роль в микробных сообществах наземной и водной среды, существуют скудные сообщения об их роли в деградации углеводов. *Prototheca zopfii* может разлагать или трансформировать ряд углеводов, таких как смешанный углеводородный субстрат, сырая нефть, ароматические углеводороды, а также n-алканы и изоалканы [19].

1.3.2 Физико-химические методы очистки почв

1.3.2.1 Промывка почвы

Промывка почвы – технология обработки на почвы, которая состоит из физического разделения и химического выщелачивания водными растворами. Движущей силой является разница в растворимости нефти и почвы в воде [20].

Во-первых, загрязненные почвы обычно выкапывают, а почву просеивают для удаления крупных камней и материалов. Если имеется большое количество глины или других очень мелких частиц почвы, промывка почвы может быть ограничена способностью частиц почвы оседать после завершения промывки.

Во-вторых, в загрязненную почву обычно добавляют поверхностно-активное вещество. Ранние поверхностно-активные вещества были простыми моющими средствами. Они работают путем присоединения гидрофобной части молекулы моющего средства к нефти и нефтепродукту, в то время как гидрофильная часть молекулы моющего средства связывается с молекулами воды. Вследствие этого увеличивается растворимость частиц, загрязненной нефтью почвы, в воде. Основным недостатком является потенциальный риск распространения загрязняющих веществ в незагрязненные районы и последствия попадания промывочного раствора в почвенную среду. Кроме того, полученные промывные воды необходимо подвергать дополнительной обработке и утилизации.

1.3.2.2 Экстракция растворителями

Экстракция растворителем – процесс, в котором соединения разделяются на основе их относительной растворимости. Этот метод обработки включает использование растворителя – жидкости, которая обладает способностью

растворять другое вещество. Растворители смешиваются в контакторе для осуществления переноса растворенного вещества, а затем фазы разделяются.

Обычно метод используют в сочетании с другими технологиями, такими как сжигание или промывка почвы, в зависимости от условий конкретного участка. Экстракция растворителем, как правило, наименее эффективна для органических веществ с очень высокой молекулярной массой (смолы и асфальтены) [21]. Но преимуществом является удаление широкого диапазона загрязняющих веществ.

1.3.2.3 Термическая десорбция

При термической десорбции загрязненный объект нагревают для улетучивания воды и органических загрязнений. Газ-носитель или вакуумная система транспортируют улетучившуюся воду и органические вещества в систему очистки газа. Температура слоя и время пребывания, предусмотренные в этих системах, будут улетучивать отдельные загрязняющие вещества, но, как правило, не будут их окислять. Это позволяет использовать почву снова без проблем с загрязнением.

При использовании метода необходимо учитывать несколько характеристик почвы: влажность, пластичность, теплоемкость, размер частиц и насыпная плотность поступающего грунта. Если влажность почвы слишком высока (обычно выше 20%), стоимость обработки значительно выше из-за дополнительной энергии, используемой для предварительного высушивания почвы. Нежелательно использовать метод для очистки глины и ила, поскольку эти материалы обычно выделяют мелкие частицы в виде пыли, которая склонна засорять и разрушать оборудование, используемое для сбора испаренных загрязняющих веществ [22].

1.3.2.4 Сорбция

Сорбционные методы являются наиболее эффективными и не дорогостоящими, экологически безопасными в отличие от других физико-химических методов. В качестве сорбентов используют природные или синтетические материалы. К ним можно отнести: торфяной мох, кокс, рисовая шелуха, солома, сено, песок, древесные опилки, активированный уголь, глина, вермикулит и т. д. Учеными был проведен опыт для определения сорбционных свойств песка, мха, керамзита и опилок в качестве сорбентов для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов [23]. Результаты показали, что использование опилок было более эффективным. Они хорошо сорбируют как предельные, так и ароматические углеводороды. Таким образом, исследование сорбционных способностей природных сорбентов показало, что они уменьшаются в ряду: опилки — мох — керамзит — песок.

2 Материалы, объект и методика исследования

2.1 Объект исследования

Объектом исследования была почва, загрязненная нефтепродуктами в соответствии с рисунком 1. Почву взяли на территории города Алматы возле автозаправочной станции (Радостовца, 119).

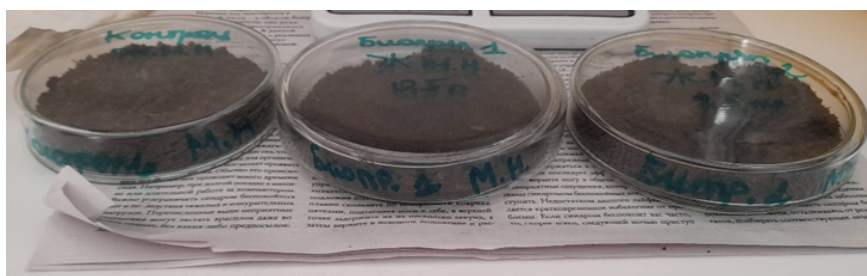


Рисунок 1 – Загрязненная почва (контроль) и загрязненная почва с биопрепаратами (опыт 1, опыт 2)

Для эксперимента было подготовлено 3 чашки Петри с загрязненной почвой массой 90 г. В первой чашке Петри была загрязненная почва как контроль. Во второй чашке Петри загрязненная почва с биопрепаратом-1. А в третьей загрязненная почва с биопрепаратом-2.

2.2 Материалы и оборудование

Для выполнения эксперимента в лаборатории используют необходимую лабораторную посуду: конические колбы, мерные стаканы, пробирки, пипетки, чашки Петри и т. д.

Материалы, используемые в эксперименте:

– биопрепарат-1. В качестве биопрепарата использовался концентрат биоактивированного, гумусного удобрения для восстановления почвы массой 0,5 г – «Дар плодородия Гуми» в соответствии с рисунком 2. В его состав входят: макроэлементы до 4 % (азот, фосфор, калий), микроэлементы до 0.03 % (Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Cr, B, Mo, Se, Li и т. д.), полезная микрофлора;



Рисунок 2 – Биопрепарат-1

– биопрепарат-2. В качестве биопрепарата-2 использовалось микробиологическое удобрение для восстановления плодородия различных типов почв – «Байкал ЭМ1» в соответствии с рисунком 3. Добавили в почву объемом 0,05 мл (1 капля);

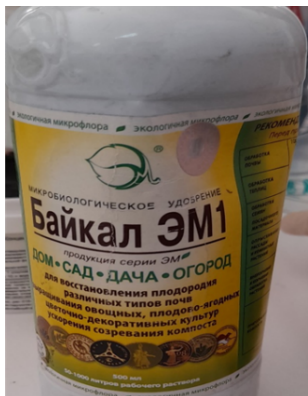


Рисунок 3 – Биопрепарат-2

– вода дистиллированная;
– вата;
– марля медицинская;
– газета;
– plate count agar (HIMEDIA M091) в соответствии с рисунком 4. Бактериологический субстрат, используемый для определения общего количества живых, аэробных бактерий в образце. Не является селективной средой. В большинстве случаев на такой питательной среде растут микроорганизмы: *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. В состав среды входит: гидролизат казеина, дрожжевой экстракт, глюкоза, агар-агар [24].

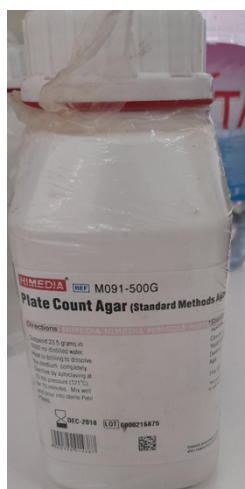


Рисунок 4 – Plate count agar

Для эксперимента используются следующие оборудования и приборы:

- магнитная мешалка с подогревом. Применяется для подогрева питательной среды;
- автоклав. Нужен для стерилизации лабораторной посуды и питательных сред как видно на рисунке 5;



Рисунок 5 – Лабораторная посуда и питательные среды внутри автоклава

- дозатор. Используется для разведения навески пробы;
- шпатель Дригальского. Применяется для посева микроорганизмов на плотную питательную среду;
- ламинарный бокс. Необходим для посева разведенной навески на питательную среду в соответствии с рисунком 6. В него нагнетается стерильный воздух, проходящий через бактериальные фильтры;



Рисунок 6 – Ламинарный бокс

- термостат. Создает и поддерживает во всей камере выбранный температурный режим и тем самым способствует росту и развитию микроорганизмов.

2.3 Методики исследования

2.3.1 Методика отбора проб почвы

Отбор проб почвы для анализа проводили в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02–2017 на территории города Алматы возле автозаправочной станции (Радостовца, 119). Размер пробной площадки составил 5x5 м в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02–2017 [25].

Методика проведения работы:

– Точечные пробы отбирали методом конверта, из которых составили 10 объединенных проб для микробиологического анализа. Каждая из проб состояла из 3 точечных проб. Для химического анализа необходимо было не менее одной объединенной пробы, состоящей из 5 точечных проб. Для этого выкапывали шурфы 30x30 см и глубиной 20 см. Из стенки шурфа вырезали почвенные образцы массой 200 г, отобранные послойно с глубины от 0 до 5 см, от 5 до 20 см.

– Для приготовления среднего образца рассыпали на стерильную клеенку почвенные образцы и тщательно перемешивали, удаляя камни и другие твердые предметы. Далее распределили почву ровным слоем в форме квадрата и разделили ее на 4 треугольника. Объединили 2 противоположных треугольника, а другие 2 убрали. Оставшуюся почву вновь перемешали и поделили на 4 треугольника. Повторили все вышеуказанные действия до тех пор, пока не остался образец почвы массой 500 г.

2.3.2 Методика культивирования микроорганизмов

В первую очередь приготовили питательную среду. Для приготовления питательной среды в коническую колбу засыпали Plate count agar массой 5,8 г и добавили дистиллированную воду объемом 250 мл. Тщательно все размешали.

Следующим этапом является разведение навески почвы согласно ГОСТ 26670–91 [26]. Для уменьшения количества микроорганизмов в 1 г почвы и получения изолированных колоний. В коническую колбу добавили 1 г чистой почвы залили 99 мл дистиллированной воды (нулевое разведение) в соответствии с рисунком 7.



Рисунок 7 – Вода с почвой (нулевое разведение)

Тщательно размешали путем вращения колбы в течение 15 мин. Это нужно для того, чтобы микроорганизмы были на поверхности воды. Повторили вышеизложенный ход работы и для почв с биопрепаратами.

После дозатором отмерили 1 мл приготовленной пробы и добавили в пробирку. В эту пробирку также дозатором добавили 9 мл дистиллированной воды (первое разведение). Затем из этой пробирки с первым разведением дозатором набрали 1 мл пробы. Добавили пробу уже в новую пробирку и смешали с 9 мл дистиллированной воды (второе разведение). Обязательно подписали пробирку. Вместе с этим выполнили разведение со смесью почвы и воды с биопрепаратом-1 и биопрепаратом-2.

Дальнейшим действием идет посев на плотную питательную среду согласно ГОСТ 26670–91 [26]. Для этого на чашке Петри маркером написали название микроорганизмов и дату посева. Подогретую питательную среду (Plate count agar) осторожно налили в чашку Петри, которую открыли лишь наполовину. Далее поставили в ламинарный бокс с приоткрытой крышкой, чтобы питательная среда застыла, а крышка не запотела как показано на рисунке 8.

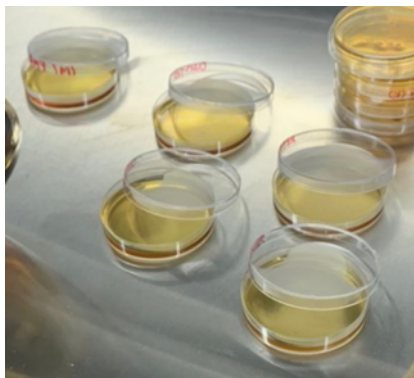


Рисунок 8 – Питательная среда в чашках Петри

После того как питательная среда застыла и подсушилась, закрыли крышкой чашку Петри с питательной средой, перевернув вверх дном, и оставили так на 1–2 часа в ламинарном боксе, чтобы оставшаяся влага, испаряясь не попадала на крышку и для исключения микробного заражения.

После дозатором нанесли каплю разведенной навески на питательную среду и шпателем Дригальского аккуратно и равномерно растерли по всей поверхности. Подсушили засеянную поверхность, держа чашки Петри в горизонтальном положении 15 минут. По прошествии 15 минут закрыли крышкой чашки Петри, перевернули их вверх дном и поставили их в термостат при температуре равной 28 °С.

3 Экспериментальная часть

Эксперимент заключался во внесении в образцы загрязненной почвы биопрепарата-1 и биопрепарата-2 с целью ее очистки. Соответственно выполнили подсчет микроорганизмов и изучили их культуральные свойства в 1 и 5 дни после добавления биопрепаратов.

Начало эксперимента: изучали скорость роста через 24 часов, 48 часов и 120 часов культивирования как показано на рисунке 12, 13.

Конец эксперимента: по прошествии 120 ч. после добавления в почву биопрепарата-1 и биопрепарата-2 сделали новый посев на питательную среду. Изучали скорость роста через 24 часа культивирования согласно рисунку 14.

Концентрацию нефтепродуктов в почве определяли методом газовой хроматографии.

Расшифровка:

Опыт 1 – загрязненная почва с биопрепаратом-1 (Дар плодородия Гуми);

Опыт 2 – загрязненная почва с биопрепаратом-2 (Байкал ЭМ1);

Контроль – загрязненная почва.

Таблица 1 – Количественный учет микроорганизмов, выделенных из почвы, загрязненной нефтепродуктами

Опытная группа	Начало эксперимента			Конец эксперимента		
	Концентрация нефтепродуктов мг/л	Обсемененность		Концентрация нефтепродуктов мг/л	Обсемененность	
		$\bar{X} \pm m_x$, КОЕ/г	C_v , %		$\bar{X} \pm m_x$, КОЕ/г	C_v , %
Опыт 1	48	4±0,9	35	38,8	17,5±2,5	20
Опыт 2	48	2,5±0,4	28	38,3	3±0,9	46,6
Контроль	48	5±0,9	28	-	19,5±1,5	10,8

Таблица 2 – Скорость роста выделенных штаммов микроорганизмов на плотной питательной среде

Опытная группа	Время контроля		
	24	48	120
Опыт 1	3/5	194/183	292/275
Опыт 2	2/3	232/220	470/457
Контроль	4/6	113/127	221/234

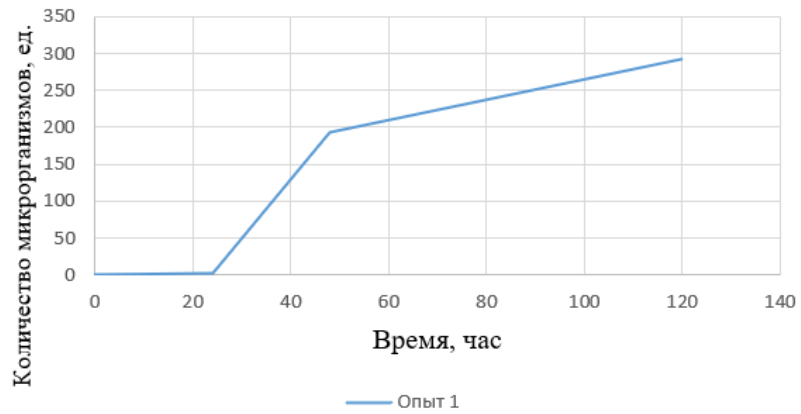


Рисунок 9 – Скорость роста микроорганизмов в опыте 1

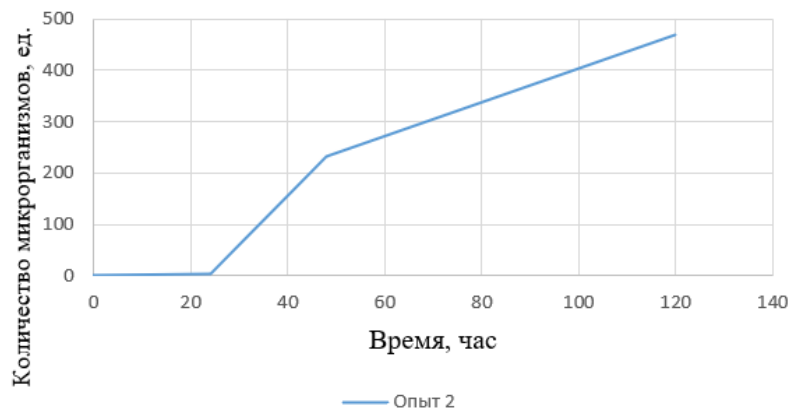


Рисунок 10 – Скорость роста микроорганизмов в опыте 2

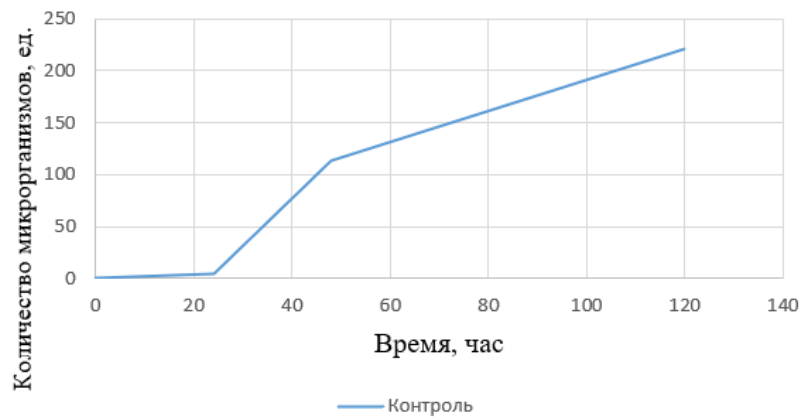


Рисунок 11 – Скорость роста микроорганизмов в контроле

Исходя из данных таблицы 1 и рисунков 9, 10 и 11, у колоний микроорганизмов был процесс адаптации в течение 24 часов к новым условиям и составу среды, так как не было их роста. После 24 часов культивирования наблюдали экспоненциальный рост у бактерий в течение дальнейшего времени

культивирования. Высокая скорость роста была замечена в опыте 2. Что указывает на быструю приспособляемость микроорганизмов к новой среде. При рассмотрении видно, что большое количество клеток имеют точечные размеры. Это связано с тем, что почкование идет быстрее роста в период логарифмического роста.

Таблица 3 – Культуральные свойства микроорганизмов через 24 часа после посева (начало опыта)

Культуральные свойства								
	Размер колоний	Форма колоний	Прозрачность	Контур края	Рельеф колонии (профиль)	Поверхность колонии	Цвет	Структура
Опыт 1/ Повтор								
Колония № 1	точечный	круглая	прозрачная	гладкий	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерный.
Колония № 2	точечный	круглая	прозрачная	гладкий	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерный.
Опыт 2/ повтор								
Колония № 3	точечный	круглая	прозрачная	гладкий	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерный.
Колония № 4	точечный	круглая	прозрачная	гладкий	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерный.
Контроль/ повтор								
Колония № 5	точечный	круглая	прозрачная	гладкий	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерный.
Колония № 6	точечный	круглая	прозрачная	гладкий	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерный.

Таблица 4 – Культуральные свойства микроорганизмов через 24 часа после посева (конец опыта)

Культуральные свойства								
Номер колонии	Размер колоний	Форма колоний	Прозрачность	Контур края	Рельеф колонии (профиль)	Поверхность колонии	Цвет	Структура
Опыт 1/ Повтор								
Колония № 1	Крупный /средний	круглая с фест. краем	непрозрачная	волнистый	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерный.
Колония № 2	крупный	нитевидная	непрозрачная	ветвистый	бугристый	шероховатая	белый	струйчатая
Колония № 3	точечный	круглая	непрозрачная	волнистый	выпуклый	гладкая	белый	однородная
Опыт 2/ повтор								

Колония № 4	средний	круглая с фест. краем	непрозрачная	волнистый	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерн.
Колония № 5	крупный	нитевидная	непрозрачная	ветвистый	бугристый	шероховатая	белый	струйчатая
Контроль/ повтор								
Колония № 6	точечный	круглая	прозрачная	гладкий	выпуклый	гладкая	белый	мелкозерн.
Колония № 7	крупный	нитевидная	непрозрачная	ветвистый	бугристый	шероховатая	белый	струйчатая
Колония № 8	точечный	круглая	непрозрачная	волнистый	выпуклый	гладкая	белый	однородная
Колония № 9	средний	круглая с фест. краем	прозрачная	волнистые	выпуклый	шероховатая	белый	мелкозерн.

Как видно из таблицы 3 в начале эксперимента во всех опытах наблюдали рост и размножение лишь одной сходной колонии точечного размера круглой формы и белого цвета. Но дальнейшее культивирование микроорганизмов в течение 120 часов после добавления биопрепаратов в конце эксперимента, показало рост и размножение новых видов колоний. В опыте 1, опыте 2 и в контроле выросли крупные и нитевидные колонии белого цвета. А также наблюдали рост средних колоний с круглым фестончатым краем белого цвета.

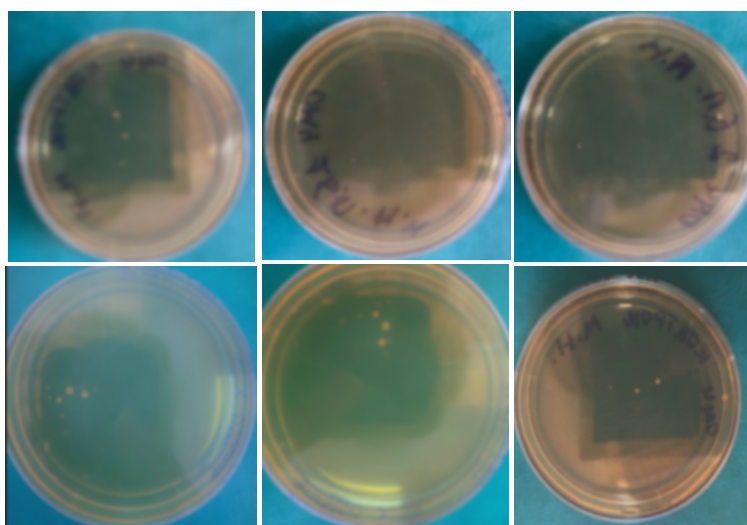


Рисунок 12 – Рост колоний в начале эксперимента после 24 часов (контроль, опыт 1, опыт 2 и повторы контроля, опыта 1 и опыта 2)

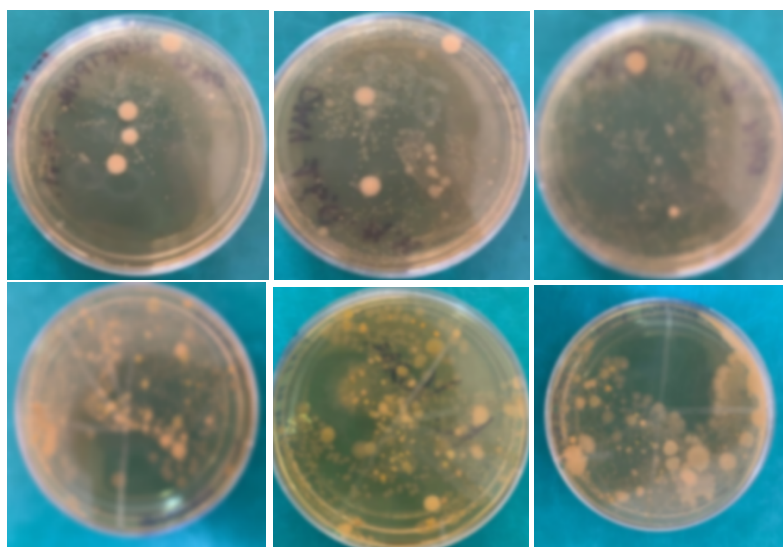


Рисунок 13 – Рост колоний в начале эксперимента после 48 часов (контроль, опыт 1, опыт 2 и повторы контроля, опыта 1 и опыта 2)

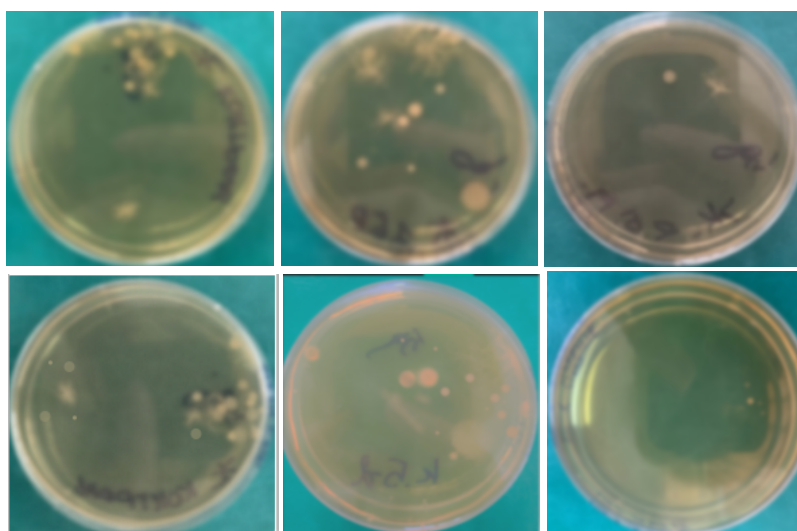


Рисунок 14 – Рост колоний в конце эксперимента после 24 часов (контроль, опыт 1, опыт 2 и повторы контроля, опыта 1 и опыта 2)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

На основании результатов проведенных исследований был проведен количественный учет микроорганизмов, описаны их культуральные свойства. А также построены кинетические кривые роста.

В начале эксперимента был замечен рост только одной колонии во всех опытах, но в разных количествах. В конце эксперимента же наблюдали размножение новых видов колоний после добавления биопрепаратов.

По результатам построения кривой роста видно, что в течение 24 часов у микроорганизмов был период адаптации к новым условиям среды. А после наблюдали экспоненциальную фазу роста микроорганизмов в геометрической прогрессии во всех опытах. Исходя из данных химического анализа, процент очистки в опыте 1 составил 19,1 %, а в опыте 2 составил 20,3 %. Таким образом, можно сделать вывод, что очистка загрязненной нефтепродуктами почвы биопрепаратом-2 эффективнее.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Хаханина Т. И. Органическая химия: учебное пособие для среднего профессионального образования // Издательство Юрайт, 2019. – 396 с.
- 2 Иванова, Т. Г. География почв с основами почвоведения: учебное пособие для вузов // Издательство Юрайт, 2020. – 250 с.
- 3 Прохоров А. М. Большая советская энциклопедия 3-е изд. // Изд-во «Советская энциклопедия», 1969. – 536 с.
- 4 James G. Speight Refining processes in the refinery of the future // Gulf Professional Publishing, 2011. – 617 p.
- 5 Saeid Azizian, Maryam Khosravi. Advanced Low-Cost Separation // Techniques in Interface Science, 2019. – PP. 283–332. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814178-6.00012-1> (дата обращения: 23. 08. 2019).
- 6 Dr. Rajesh Kumar Mishra, Dr. Naseer Mohammad and Dr. N. Roychoudhury Soil pollution: Causes, effects, and control // Tropical Forest Research Institute, 2016. – PP. 1–14. URL: <https://www.researchgate.net/publication/289281444> (дата обращения: 05. 01. 2016).
- 7 Abdel-Shafy Hussein I., Mona S.M. Mansour A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation // Egyptian Journal of Petroleum, 2015. – PP. 107–123. URL: <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1016%2Fj.ejpe.2015.03.011> (дата обращения: 18. 12. 2015).
- 8 Shuguang Wang, Yan Xu, Zhaofeng Lin The harm of petroleum-polluted soil and its remediation research // AIP Publishing, 2017. – PP. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1063/1.4993039> (дата обращения: 03. 08. 2017).
- 9 ГОСТ Р 51858–2002. Нефть. Общие технические условия [Текст]. – Введ. 2002–07–01.– М.: Стандартинформ, 2006. – 12 с.
- 10 Гаврилин И. И., Шигапов А. М. Некоторые особенности биологических методов очистки почвогрунтов от загрязнения нефтепродуктами // Международный научно-исследовательский журнал, 2014. – С. 43–46. URL: <http://www.research-journal.org/> (дата обращения: 08. 04. 2014).
- 11 M. Mambwe, K. K. Kalebaila, T. Johnson Remediation technologies for oil contaminated soil // Global Journal of Environmental Science and Management, 2021. – PP. 419–438. URL: https://www.gjesm.net/article_242249.html (дата обращения: 09. 02. 2021).
- 12 Jean-Marc Bollag, Tawna Mertz, and Lewis Otjen Role of Microorganisms in Soil Bioremediation // American Chemical Society, 1994. – PP. 2–10. URL: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines> (дата обращения: 19. 04. 1994).
- 13 А. А. Янковская, И. В. Филимонов, Н. В. Завьялова, А. Н. Голипад, В. А. Ковтун Экологически безопасная биоремедиация почвы и очистка воды in situ от продуктов деструкции отравляющих веществ // ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 2016. – С. 89–95. URL: <http://envjournal.ru/ari/v2016/v4/16413.pdf> (дата обращения: 14. 06. 2016).

14 Sales da Silva I. G., Gomes de Almeida F. C., Padilha da Rocha e Silva N. M., Casazza A. A., Converti A. Soil Bioremediation: Overview of Technologies and Trends // *Energies*, 2020. – PP. 13–18. URL: <https://doi.org/10.3390/en13184664> (дата обращения: 08. 09. 2020).

15 Etsuko Kaimi, Tsukasa Mukaidani and Masahiko Tamaki Screening of Twelve Plant Species for Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil // *Plant Production Science*, 2015. – PP. 211–218. URL: <https://doi.org/10.1626/pps.10.211> (дата обращения: 03. 12. 2015).

16 Mengxue Hu Environmental Behavior of Petroleum in Soil and its Harmfulness Analysis // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 450, 2020. – PP. 1–6. URL: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/450/1/012100> (дата обращения: 18. 05. 2020).

17 Iosob Gabriel Alin, Ionut Stoica, Maria Calin Biological remediation of soil polluted with oil products: an overview of available technologies // *Universitatea “Vasile Alecsandri” din Bacău*, 2016. – PP. 89–101. URL: <https://www.researchgate.net/publication/309901995> (дата обращения: 11. 11. 2016).

18. Giulia Spini, Federica Spina, Anna Poli, Anne-Laure Blieux, Tiffanie Regnier, Carla Gramellini, Giovanna C. Varese, Edoardo Puglisi Molecular and Microbiological Insights on the Enrichment Procedures for the Isolation of Petroleum Degrading Bacteria and Fungi // *Front. Microbiol.*, 2018. – PP. 35–46. URL: [10.3389/fmicb.2018.02543](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02543) (дата обращения: 30. 10. 2018).

19 Monu Jariyal, Manish Yadav, Nitin Kumar Singh, Suman Yadav, Iti Sharma, Swati Dahiya, Arti Thanki Microbial remediation progress and prospects // *Bioremediation of Pollutants*, 2020. – PP. 187–214. URL: <https://www.sciencegate.app/app/redirect> (дата обращения: 12. 06. 2020).

20 P. Kostecki, J. Dragun Hydrocarbons in *Encyclopedia of Soils in the Environment* // Elsevier Ltd., 2005. – 2200 p.

21 Xingang Li, Yongliang Du, Zhongyuan Li, Guozhong Wu, Hong Li, Hong Sui Solvent extraction for heavy crude oil removal from contaminated soils // *Municipal Natural Science Foundation of Tianjin*, 2012. – PP. 187–214. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.021> (дата обращения: 21.03. 2020).

22 Lukas Vander Linden, Ian McCreery Thermal Desorption // *Geoenvironmental engineering*, 2013. – PP. 53-59. URL: <https://www.geoengineer.org/education/web-class-projects/cee-549-geoenvironmental-engineering-winter-2013/assignments/thermal-desorption#recommended-reading> (дата обращения: 21.01. 2013).

23 А. В. Буланова, И. В. Грецкова, О. В. Муратова Исследование сорбционных свойств сорбентов, применяемых для очистки почв от нефтяных загрязнений // *Вестник СамГУ*, 2005. – С. 150–158. URL: <http://vestniksamgu.ssau.ru/est/2005web3/chem/200530301.pdf> (дата обращения: 29. 03. 2005).

24 Plate Count Agar (Standard Methods Agar), Technical Data // HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, 2018 – 3 p. URL: <https://www.himedialabs.com/TD/M091.pdf> (дата обращения: 01.02. 2018).

25 ГОСТ 17.4.4.02-2017. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа [Текст]. – Введ. 2019–01–01. – М.: Изд-во стандартов, 2018. – 3 с.

26 ГОСТ 26670–91. Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов [Текст]. – Введ. 1933–01–01. – М.: Изд-во стандартов, 1992. – 2 с.

ОТЗЫВ

НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на дипломную работу Жаубасар М. Н.

студентки кафедры ХиБИ

Специальность: 5В070100 – Биотехнология

Тема: “ Физико-химические и микробиологические основы очистки почв, загрязненных нефтепродуктами”

Основные замечания по дипломной работе и характеристика студента

Дипломная работа Жаубасар Мөлдір посвящена исследованию одной из важнейших проблем современного мира на тему «Физико-химические и микробиологические основы очистки почв, загрязненных нефтепродуктами». В настоящее время загрязнение нефтью и нефтепродуктами наносит значительный вред водной среде, атмосфере, почве до такой степени, что угрожает здоровью людей, домашнего скота, дикой природы и даже целых экосистем.

Жаубасар Мөлдір выполнила эксперимент по очистке загрязненной нефтепродуктами почвы биологическим методом путем добавления биопрепаратов. В ходе выполнения экспериментальной части изучила культуральные свойства микроорганизмов, выделенных из загрязненной почвы в процессе ее очистки от нефтепродуктов. Поставленные цели и задачи полностью соответствуют теме исследования. Дипломная работа написана на основе современных статистических данных и статей ученых, авторитетных в данной области.

По итогам дипломной работы можно сделать вывод, что студентка показала хорошие навыки работы с теоретическими и практическими материалами. В процессе написания работы соблюдала сроки календарного графика и проявила такие качества как исполнительность и дисциплинированность, ответственность и заинтересованность.

Оценка дипломной работы

Дипломная работа Жаубасар Мөлдір выполнена на хорошем теоретическом и практическом уровне, соответствует требованиям, предъявляемым к подобным работам, рекомендуется к защите и при успешной защите заслуживает отличной оценки.

Научный руководитель:



Рафикова Х.С., доктор Ph.D.,
ассоц. профессор

РЕЦЕНЗИЯ

НА ДИПЛОМНУЮ РАБОТУ

студентки ЖАУБАСАР МӨЛДІР НҰРЖІГІТҚЫЗЫ

по специальности 5В070100 – Биотехнология

На тему: «Физико-химические и микробиологические основы очистки почв, загрязненных нефтепродуктами»

Выполнено:

- а) графическая часть на 10 листах;
- б) пояснительная записка на 31 странице.

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ


Рецензируемая работа выполнена на актуальную тему «Физико-химические и микробиологические основы очистки почв, загрязненных нефтепродуктами». Выбор данной темы связан с тем, что выброс таких загрязняющих веществ, как нефть и нефтепродукты наносит серьезный вред всем формам жизни в связи с растущей глобальной индустриализацией. Научная новизна исследования заключается в том, что в работе впервые были выделены штаммы микроорганизмов из почвы на территории города Алматы возле автозаправочной станции в процессе ее очистки от нефтепродуктов.

Структура дипломной работы Жаубасар Мөлдiр включает в себя: введение, литературный обзор, материалы, объект и методику исследования, экспериментальную часть, заключение и перечень использованной литературы. Содержит 14 рисунков и 4 таблицы.

Из представленного диплома видно, что Жаубасар М. Н. продемонстрировала хорошие навыки анализа большого массива практической и теоретической информации по теме дипломного проекта, а также умение делать самостоятельные выводы, обобщения и предложения.

Оценка работы

Рецензируемая дипломная работа Жаубасар Мөлдiр полностью соответствует требованиям государственного стандарта, предъявляемым к работам подобного рода, рекомендуется к защите и при успешной защите заслуживает отличной оценки.

**Рецензент**
Кандидат биологических наук, доцент
кафедры биотехнологии
факультета биологии и биотехнологии
КазНУ имени Аль-Фараби
Садвакасова А. К.
«11» 05 2022 г.



Метаданные

Название

2022-БАК-Жаубасар М.docx

Автор

Научный руководитель






Жаубасар М.**Хадичахан Рафикова**

Подразделение

ИГИНГД

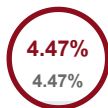
Список возможных попыток манипуляций с текстом

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажениях. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще всего 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		0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		11

Объем найденных подобиий

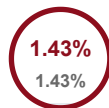
Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



КП1

25

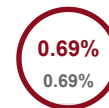
Длина фразы для коэффициента подобия 2



КП2

6090

Количество слов



КЦ

47995

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	https://asunef.ru/prochee/kakim-veshhestvom-yavlyaetsya-neft-otkuda-beryoysya-i-iz-chego-sostoit.html	33	0.54 %
2	https://official.satbayev.university/download/document/15915/2020_БАК_Чанай_Ө.А..pdf	29	0.48 %
3	https://official.satbayev.university/download/document/15915/2020_БАК_Чанай_Ө.А..pdf	25	0.41 %
4	https://official.satbayev.university/download/document/15985/2020_БАК_Сүлейменов_Өлишер.pdf	22	0.36 %

5	Размножение лилий в культуре in vitro 4/24/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	17	0.28 %
6	https://official.satbayev.university/download/document/15985/2020_БАК_Сүлейменов_Әлишер.pdf	17	0.28 %
7	https://official.satbayev.university/download/document/15985/2020_БАК_Сүлейменов_Әлишер.pdf	17	0.28 %
8	https://official.satbayev.university/download/document/15915/2020_БАК_Чанай_Ө.А..pdf	16	0.26 %
9	https://asunefit.ru/prochee/kakim-veshhestvom-yavlyaetsya-neft-otkuda-beriyotsya-i-iz-chego-sostoit.html	14	0.23 %
10	https://www.rohstoff-forum.org/wp-content/uploads/sites/2/2019/12/dmitry-petrotschenko.pdf	12	0.20 %

из базы данных RefBooks (0.00 %)

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

из домашней базы данных (0.80 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	Размножение лилий в культуре in vitro 4/24/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	23 (2)	0.38 %
2	«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии Pseudomonas aeruginosa» 5/6/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	21 (3)	0.34 %
3	Курбанова Зумрад дипломный проект.docx 5/6/2019 Satbayev University (И_АиС)	5 (1)	0.08 %

из программы обмена базами данных (0.00 %)

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

из интернета (3.66 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	https://official.satbayev.university/download/document/15915/2020_БАК_Чанай_Ө.А..pdf	75 (4)	1.23 %
2	https://official.satbayev.university/download/document/15985/2020_БАК_Сүлейменов_Әлишер.pdf	72 (6)	1.18 %
3	https://asunefit.ru/prochee/kakim-veshhestvom-yavlyaetsya-neft-otkuda-beriyotsya-i-iz-chego-sostoit.html	47 (2)	0.77 %
4	https://www.rohstoff-forum.org/wp-content/uploads/sites/2/2019/12/dmitry-petrotschenko.pdf	12 (1)	0.20 %

5	http://www.ams.tsu.ru/TSU/QualificationDep/co-searchers.nsf/091D0947FC9535FB47257D6D000C11C4/\$file/%D0%9F%D0%B8%D1%81%D0%B0%D1%80%D1%87%D1%83%D0%BA_%D0%90.%D0%94_%D0%94%D0%B8%D1%81%D1%81%D0%B5%D1%80%D1%82%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F.pdf	11 (1)	0.18 %
6	https://pdnr.ru/a19150.html	6 (1)	0.10 %

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

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