

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»

Тлейбергенова Камилла Сабитқызы

Физико-химические и микробиологические основы очистки нефтезагрязненных
почв

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

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



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Физико-химические и микробиологические основы очистки
нефтезагрязненных почв»

по специальности 5В070100 — Биотехнология

Выполнила

Тлейбергенова Камилла Сабитқызы

Рецензент

кандидат биологических наук, доцент

Садуақасова А. К.

«31» 05 2022 г.



Научный руководитель
доктор Ph.D, асоц. профессор

Рафикова Х. С.

«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»

5B070100 — Биотехнология

УТВЕРЖДАЮ

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



ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающемуся Тлейбергеновой Камилле Сабитқызы

Тема: Физико-химические и микробиологические основы очистки нефтезагрязненных почв.

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:

Краткое содержание дипломной работы:

а) *литературный обзор;*

б) *экспериментальная часть;*

в) *результаты и обсуждение экспериментальных данных;*

Перечень графического материала: *представлены 11 слайдов презентации работы.*

Рекомендуемая основная литература: *из 32 наименований 17 основных и 15 дополнительных.*

ГРАФИК

подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю и консультантам	Примечание
Литературный обзор	15.03.2022	
Экспериментальная часть	20.04.2022	
Обсуждение результатов	05.05.2022	
Оформление работы	15.05.2022	

Подписи

консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименование разделов	Консультанты, И.О.Ф (уч.степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Аналитический обзор литературы	Х. С. Рафикова доктор PhD, асоц. профессор	15.03.2022	
Объект, материалы и методика исследования	Г. А. Джамалова канд.с.-х. наук, асоц. профессор Т. А. Сериков тьютор, магистрант	20.04.2022	
Результаты исследования	Х. С. Рафикова доктор PhD, асоц. профессор Г. А. Джамалова канд.с.-х. наук, асоц. профессор	05.05.2022	
Нормоконтролер	Х.С. Рафикова доктор PhD, асоц. профессор	15.05.2022	

Научный руководитель



Рафикова Х. С.

Задание принял к исполнению обучающийся



Тлейбергенова К.С.

Дата

«30» 05 2022г.

АННОТАЦИЯ

Структура и объем дипломной работы: текст дипломной работы изложен на 34 страницах. По содержанию диплом охватывает три основных раздела: литературный обзор, экспериментальная часть и результаты проведенных опытов. В дипломной работе имеется библиографический список использованной литературы, содержащий 32 наименования. В документе дипломной работы содержится 12 рисунков и 8 таблиц.

Актуальность дипломной работы. Нефть попадает в почву естественным путем через нефтяные просачивания или антропогенным путем в результате случайных или преднамеренных разливов и утечек при разрыве трубопроводов. Вследствие загрязнений были изобретены методы очистки, способствовавшие удалению и сокращению нефтяных отложений с внешней среды.

Объект исследования. Почва, загрязненная нефтью.

Целью настоящей работы является изучение процентное сокращение нефти в почве после добавления микроорганизмов.

Полученные результаты. Проведен мониторинг чувствительности микроорганизмов к биопрепаратам и установление процентное содержание нефти в почве путем микробиологической очистки.

Ключевые слова: Нефть, почва, культивирование и культуральные свойства микроорганизмов, химический и бактериологический анализ.

АҢДАТПА

Дипломдық жұмыстың құрылымы мен көлемі: дипломдық жұмыстың мәтіні 34 бетте берілген. Диплом мазмұны бойынша үш негізгі бөлімді қамтиды: әдеби шолу, эксперименттік бөлім және эксперименттердің нәтижелері. Дипломдық жұмыста 32 атаудан тұратын пайдаланылған әдебиеттердің библиографиялық тізімі бар. Дипломдық құжатта 12 сурет және 8 кесте бар.

Дипломдық жұмыстың өзектілігі. Мұнай топыраққа табиғи түрде мұнайдың ағып кетуі арқылы немесе кездейсоқ немесе әдейі төгіліп, құбырлар жарылған кезде ағып кету нәтижесінде антропогендік жолмен енеді. Ластанудың салдарынан сыртқы ортадан мұнай шөгінділерін жоюға және азайтуға ықпал ететін тазарту әдістері ойлап табылды.

Зерттеу объектісі. Мұнаймен ластанған топырақ.

Бұл жұмыстың мақсаты-микроорганизмдер қосылғаннан кейін топырақтағы мұнайдың пайыздық төмендеуін зерттеу.

Алынған нәтижелер. Микроорганизмдердің биопрепараттарға сезімталдығына мониторинг және микробиологиялық тазарту арқылы топырақтағы мұнайдың пайыздық мөлшерін белгілеу жүргізілді.

Түйінді сөздер: Мұнай, топырақ, микроорганизмдері культиверлеу және дақылдық қасиеттері, химиялық және бактериологиялық талдау.

ANNOTATION

The structure and scope of the thesis: The text of the thesis is presented on 34 pages. According to the content, the diploma covers three main sections: a literary review, an experimental part and the results of the experiments. The thesis has a bibliographic list of references, which contains 32 titles. The thesis document contains 12 figures and 8 tables.

The relevance of the thesis. Oil enters the soil naturally through oil seeps or by anthropogenic means because of accidental or intentional spills and leaks when pipelines are ruptured. As a result of pollution, cleaning methods were invented that contributed to the removal and reduction of oil deposits from the external environment.

The object of the study. Soil contaminated with oil.

The purpose of this work is to study the percentage reduction of oil in the soil after the addition of microorganisms.

The results obtained. The sensitivity of microorganisms to biological products was monitored and the percentage of oil in the soil was determined by microbiological purification.

Keywords: Oil, soil, cultivation and cultural properties of microorganisms, chemical and bacteriological analysis.

СОДЕРЖАНИЕ

	Введение	9
1	Литературный обзор	10
1.1	Влияние нефтяных загрязнений на почву	10
1.2	Токсическое воздействие нефти на окружающую среду	11
1.3	Методы извлечения и очистки общих нефтяных углеводородов в почве	11
1.4	Аналитические процедуры для нефтяных углеводородов в почве	13
1.4.1	Гравиметрический метод	13
1.4.2	Газовая хроматография	14
1.5	Физико-химическая очистка загрязненной почвы	15
1.5.1	Выемка грунта	15
1.5.2	Промывка почвы	15
1.5.3	Экстракция паров почвы	16
1.5.4	Термическая десорбция	16
1.5.5	Сжигание	17
1.6	Биологическая очистка загрязненной нефтью почвы	17
1.6.1	Микробная деградация и ремедиация сырой нефти	17
1.6.2	Фиторемедиация	19
2	Объект, материалы и методика исследований	21
2.1	Объект исследования	21
2.2	Материалы исследования	21
2.3	Методы исследования	22
3	Результаты исследования	24
3.1	Подготовка объекта к исследованию	24
3.2	Перевод модельных образцов почв в раствор	25
3.3	Посев и культивирование микроорганизмов	25
3.4	Культуральные свойства штаммов микроорганизмов, выделенных из нефтезагрязненных почв	26
3.5	Результаты биологической очистки нефти в почве	30
	Заключение	31
	Список использованной литературы	32

ВВЕДЕНИЕ

Открытие сырой нефти значительно изменило образ жизни человека. Она улучшила нашу жизнь с экономической точки зрения, а также привела к появлению быстрого и доступного источника энергии. Нефть, или петролеум, представляет собой сложную смесь углеводородов разного молекулярного веса и структуры. Она состоит из трех основных химических групп, а именно: парафиновых (алифатических), нафтеновых (алициклических) и ароматических.

Актуальность дипломной работы. Загрязнение почв сырой нефтью остается актуальной проблемой. Разливы нефти на шельфе нанесли дорогостоящий ущерб прибрежным линиям в разных частях мира. Нефть попадает в почву естественным путем через естественные нефтяные просачивания или антропогенным путем в результате случайных или преднамеренных разливов и утечек, таких как намеренный или идентичный разрыв трубопроводов

Как только нефть разливается в окружающую среду, сразу же начинается процесс улетучивания, растворения микробной и фотохимической деградации исходного состава нефти, приводящий к изменению этого состава. Поскольку загрязнение почвы представляет опасность для водоснабжения и здоровья людей, были разработаны критерии оценки такого загрязнения и технологии борьбы с загрязнителями. Одной из главных задач является деградация, очистка и ремедиация почвы от сырой нефти.

Поэтому за прошедшие годы были разработаны несколько методов очистки загрязненной сырой нефтью почвы с использованием физических, химических, термических и биологических методов.

Целью научной работы является изучение биологического способа очистки с помощью биоаугментации в случае загрязнения почвы нефтью для дальнейшего получения результатов.

Задачи:

- Изучение общей обсемененности с помощью микроорганизмов нефтезагрязненных почв;
- Изучение культуральных свойств микроорганизмов, выращенных на твердой питательной среде;
- Построение кинетической кривой роста микроорганизмов;
- Очистка загрязненной почвы микроорганизмами и получение химического анализа.

Научная новизна исследований. Впервые изучены культуральные свойства микроорганизмов, выделенных из модельного загрязнения нефтью почвы, взятой с территории университета им. К. И. Сатпаева. На основе проведенных исследований было выявлено процентное содержание нефти в почве с помощью микроорганизмов путем биологической очистки.

1 Литературный обзор

1.1 Влияние нефтяных загрязнений на почву

Нефтяные углеводороды состоят в основном из трех групп соединений, а именно алканов, алкенов и ароматических соединений. Алканы являются ключевыми компонентами многих продуктов нефтепереработки (например, бензина, дизельного топлива, керосина, топлива для реактивных двигателей и мазута) и подразделяются на несколько классов, которые включают следующие: линейные алканы (н-алканы), разветвленные алканы, изопреноиды, циклоалканы (например, стераны и тритерпаны) и неразрешимые комплексные смеси.

Разливы нефти являются основной причиной загрязнения почвы углеводородами. По имеющимся данным, глобальная утечка природной нефти составляет 600 000 метрических тонн в год [1]. По оценкам, нефтяное загрязнение привело к загрязнению 3,5 миллионов участков в Европе [2]. В Китае примерно на 4,8 миллионах гектаров содержание нефти в почве может превышать безопасный предел [3]. В разных странах и районах существуют различные методы отбора и транспортировки проб, а также различные источники и степени нефтяного загрязнения. Кроме того, загрязняющие вещества выщелачиваются в окружающую и глубинную почву в горизонтальном и вертикальном направлениях, а также в систему грунтовых вод в результате вымывания осадками и выщелачивания.

Влияние сырой нефти на почву зависит от размера, количества и сорта разлитой нефти. Разлитая сырая нефть уменьшает пористость почвы. Это связано с тем, что нефть заставляет частицы почвы слипаться, тем самым уменьшая поры. Higgins и Burns [4] сообщили, что в загрязненной нефтью почве капли нефти вмешиваются в межпоровые промежутки. Кроме того, сырая нефть образует слой, покрывающий поверхность почвы и удерживающий углекислый газ, образующийся в результате дыхания почвенных организмов. Стойкость нефти в почве зависит от количества разлитой нефти, процедур очистки, микробной деградации, климатических условий и типа разлитой нефти.

Известно, что были выполнены три процесса биоремедиации, а именно естественная аттенуация (уменьшение), добавление питательных веществ путем добавления глюкозы и биостимуляция путем добавления Tween 80 (полисорбат 80), представляет собой гидрофильное неионогенное поверхностно-активное вещество, который является одним из наиболее часто используемых поверхностно-активных веществ. Были проведены в различных концентрациях нефтяных углеводородов в загрязненной водной среде с использованием консорциума трех изолятов простейших (*Aspidisca sp.*, *Trachelophyllum sp.* и *Peranema sp.*).

Экспериментальное исследование проводилось с использованием четырех небольших аквариумов, которые использовались как биореакторы. В каждый бак биореактора переносили по 2,50 литров пробы нефтезагрязненной воды с

концентрацией нефтяного масла 50, 100, 150, 200 и 250 мг/л соответственно. Каждый реактор-резервуар обрабатывали 5 мл биоцида хлорида ртути (HgCl_2) в качестве абиотического контроля.

Результаты показали увеличение процентного удаления нефтяного масла при более низких концентрациях нефтяного масла и постепенное процентное снижение удаления нефтяного остатка произошло при увеличении исходных концентраций нефтяного масла: 39%, 27%, 22%, 12%, 10% для различных концентраций нефтяного масла 50, 100, 150, 200, 250 мг/л соответственно. Аналогичная тенденция наблюдалась и в культуральных средах с добавлением глюкозы, где снижение составило 45% и 78% для концентраций нефти 250 мг/л и 50 мг/л соответственно. Биодegradация от 33 до 90% была достигнута при концентрации Tween 80 от 50 мг/л до 250 мг/л.

Период естественного полураспада нефтяных углеводородов увеличивается с ростом их концентрации (когда концентрация нефти составляет 250 мг/л, период полураспада составляет 217 дней) [5].

1.2 Токсическое воздействие нефти на окружающую среду

Klokk J. [6] изучил влияние загрязнения сырой нефтью на прорастание и вегетативный рост пяти видов сосудистых растений и сообщил о снижении общей скорости прорастания. Реакция прорастания на нефть сильно варьировала в зависимости от вида растений, а представители одного и того же вида растений проявляли различную чувствительность к загрязнению нефтью [7]. Amakiri и Onofeghara [8] сообщили, что семена *Zea mays* не прорастали после воздействия нефти в течение более семи дней, в то время как семена *Capsicum frutescens* демонстрировали 100% жизнеспособность после 32 недель воздействия.

Некоторые негативные последствия разливов нефти и загрязнения птиц и водных животных были документально подтверждены. Хроническое загрязнение морской среды в водах юго-восточного Ньюфаундленда (Канада) привело к гибели 74% морских птиц, погибших в период с по 1984 г. На перьях погибших птиц была обнаружена нефть [9]. В результате аварии нефтяного танкера Prestige в ноябре, когда 2002 около 63,000 тонн тяжелой нефти попало на Галисийское побережье (северо-запад Испании), было обнаружено, что у птиц, подвергшихся воздействию разлива, наблюдались различные уровни повреждения ДНК [10].

1.3 Методы извлечения и очистки общих нефтяных углеводородов в почве

Наиболее часто используемые методы экстракции образцов почвы и отложений перед их аналитическим определением включают обычную экстракцию по Сокслету, ультразвуковую обработку, вихревое/механическое

встряхивание, ускоренную экстракцию растворителем и сверхкритической флюидной экстракции. Эффективность экстракции для всех этих методов зависит исключительно от образца и матрицы растворителя [11].

Механическое встряхивание достаточно просто и подходит для извлечения нефтяных углеводородов из различных проб окружающей среды [12]. Он включает встряхивание образца с растворителем. Влагопоглотитель (например, Na_2SO_4) иногда добавляют для удаления влаги и облегчения разрушения образца, тем самым увеличивая площадь его поверхности для превосходного контакта с экстрагирующим растворителем.

Экстракция по Сокслету является наиболее часто используемой и достаточно эффективной для экстракции полуплетучих веществ. Он включает непрерывное нагревание и кипячение образца с растворителем в течение длительного периода времени, но дает большой объем экстракта для концентрирования и менее подходит для летучих веществ [13].

Метод ультразвуковой экстракции также очень подходит для полуплетучих веществ. Он использует звуковые волны (ультразвуковые колебания) для улучшения переноса желаемых соединений из образца в растворитель. Это более быстрый метод, чем экстракция по Сокслету, и требует относительно меньшего количества растворителя [14]. Однако он трудоемок, поскольку требует многократного извлечения, декантации и фильтрации для каждого обработанного образца.

Ускоренная экстракция растворителем – еще один метод экстракции полуплетучих органических соединений. Он иначе называется субкритической флюидной экстракцией. Субкритическая флюидная экстракция использует для своей работы органические растворители, такие как дихлорметан. Растворитель нагревается и находится под давлением перед тем, как пройти через образец для быстрого и эффективного удаления желаемых соединений из матрицы образца [11, 13]. Метод требует более короткого периода экстракции и меньшего объема растворителя по сравнению с обычными методами и, таким образом, является хорошей альтернативой как экстракции Сокслета, так и ультразвуковой экстракции [14]. Однако это дорогостоящий метод, и он имеет тенденцию извлекать много помех вместе с желаемыми аналитами из-за высокой температуры, которую он использует для своей работы. Поэтому может потребоваться очистка колонки после процесса экстракции перед аналитическим определением. Более того, процесс экстракции хотя и короче по сравнению с экстракцией методом Сокслета, но время подготовки к экстракции клеток велико, а промывка требует много растворителя [13].

Сверхкритическая флюидная экстракция является стандартным методом Агентства по охране окружающей среды для определения общего количества извлекаемых нефтяных углеводородов и полициклических ароматических углеводородов. Он включает нагрев и давление подвижной фазы (например, CO_2) до сверхкритических уровней, в результате чего она обладает свойствами как газа, так и жидкости (сверхкритическая жидкость). Затем жидкость пропускают через образец для концентрирования аналитов на конкретном

сорбенте, после чего их элюируют растворителем и анализируют обычным образом [11].

1.4 Аналитические процедуры для нефтяных углеводородов в почве

Существует множество традиционных аналитических методов для измерения концентраций общих нефтяных углеводородов в различных пробах окружающей среды. Наиболее часто используемые методы включают инфракрасную спектроскопию, гравиметрию, газовую хроматографию с пламенно-ионизационным детектированием, газовую хроматографию с масс-спектрометрическим детектированием, ультрафиолетовая спектрофотометрия и флуоресцентная спектроскопия. В этом разделе будут представлены сильные и слабые стороны некоторых методов.

1.4.1 Гравиметрический метод

Метод подходит для извлечения относительно нелетучих углеводородов, также не рекомендуется для измерения материалов, которые улетучиваются при температуре ниже 85°C. Нефтяное топливо от бензина до мазута может быть частично потеряно в процессе удаления растворителя.

Твердые образцы (шлам, почва и отложения) учитываются в методе испытаний, в котором влажный образец должен быть подкислен концентрированной HCl. Образец подкисленного ила сушат либо безводным сульфатом натрия, либо сульфатом магния, а образец почвы или отложений – сульфатом натрия перед экстракцией по методу Сокслета н-гексаном. После сушки материал экстрагируют н-гексаном с помощью аппарата Сокслета, затем н-гексан отгоняют от экстракта, а материал высушивают и взвешивают.

В данном исследовании каждый отход подвергался экстракции по методу Сокслета в трех экземплярах с использованием фреона-113 и каждого из альтернативных растворителей. Исходя из общих результатов, н-гексан был признан лучшим альтернативным растворителем. Данные, представленные в Таблице 1, сравнивают результаты для фреона-113 и н-гексана для каждого отхода.

Таблица 1 – Экстракция Сокслета твердых веществ с использованием фреона-113 и н-гексана (все концентрации в мг/кг) [15]

Объект/ процесс	Поток отходов	Растворитель	Rep No. 1	Rep No. 2	Rep No. 3	Средняя концентрация	Стандарт. отклонение
Бумажная фабрика	Обезвоженный осадок	Фреон	11000	5300	7900	8000	2762
		Гексан	6600	2400	11000	6600	4203
Государственные очистные сооружения	Канализационный осадок	Фреон	98000	81000	81000	87000	9940
		Гексан	110000	86000	80000	91000	13281
Кожевенный завод	Обезвоженный осадок	Фреон	11000	12000	12000	12000	732
		Гексан	21000	15000	19000	18000	3201
Государственные очистные сооружения	Переваренный осадок	Фреон	130000	97000	6600	98000	33028
		Гексан	54000	76000	48000	59000	14516
Нефтеперерабатывающий завод	Осадок сепаратора API	Фреон	320000	350000	250000	310000	53257
		Гексан	240000	320000	240000	270000	43822
Загрязненная почва	Загрязненная почва	Фреон	2000	1400	1900	1700	352
		Гексан	2500	3200	2600	2800	410

Гравиметрическое определение нефтяных углеводородов в пробах окружающей среды является довольно простым и доступным по цене и, таким образом, с годами получило очень широкое распространение, поскольку не требует специального оборудования. Эффективность экстракции растворителем относительно низка для соединений с более высокой молекулярной массой, но ее можно разумно повысить добавлением соли (хлорида натрия).

1.4.2 Газовая хроматография

Метод имеет возможность предоставлять некоторую необходимую информацию о типе продукта. Летучие образцы обычно вводят в газовый хроматограф методом продувки и ловушки.

Алифатические и ароматические фракции анализируют отдельно на газовом хроматографе с использованием пламенно-ионизационного детектора, который наиболее предпочтителен из-за его относительной чувствительности и селективности в отношении углеводородов. Эти две фракции обычно делят на диапазоны числа атомов углерода и на основе маркеров полициклических ароматических углеводородов и н-алкана соответственно. Площади, покрытые компонентами, чаще всего оцениваются для определения общего уровня нефтяных углеводородов в образце.

В исследованиях по выявлению нефтяных углеводородов методом газовой хроматографии в почвах Колумбии, твердые образцы были собраны в пробирки объемом 20 мл с твердой пробкой и тефлоновой перегородкой. 10 г почвы или осадка экстрагировались 20 мл н-пентана. После добавления н-пентана образцы встряхивали в течение 15 мин. с помощью ультразвукового аппарата и давали им осесть в течение 30-60 мин. при комнатной температуре. Две дополнительные экстракции, каждая с 20 мл н-пентана, проводились таким же образом. Затем 1,0 мл органического экстракта переносили в пробирку и анализировали методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием. Анализ общих нефтяных углеводородов проводился на газовом хроматографе Hewlett Packard Series 5890 II Plus.

Для количественного определения площадь пика для общих нефтяных углеводородов определялась с помощью принудительного интегрирования линий с помощью программного обеспечения Agilent Chemstation между н-гексаном (n-C6) и н-пентатриаконтаном (n-C35) или до элюирования последнего пика в хроматографическом профиле.

Сравнение типичных калибровочных кривых для нефтепродуктов между различными операторами показало среднюю корреляцию, которая 0.9996, указывает на отличную линейность в оцениваемом диапазоне и, следовательно, гарантирует, что любая концентрация нефтяных углеводородов, присутствующая в водных и твердых образцах, может быть определена с надежной точностью и аккуратностью в таком диапазоне [16].

С помощью методов газовой хроматографии идентичность свежей и слегка разложившейся нефти может быть установлена в образцах окружающей среды для распознавания образцов.

1.5 Физико-химическая очистка загрязненной почвы

1.5.1 Выемка грунта

Это механический вывоз загрязненной почвы на отвальные участки либо для захоронения, либо для сжигания. Однако этот процесс является очень дорогостоящим, поскольку для снятия слоя грунта необходимо нанять подрядчика. Еще одной проблемой при выемке грунта является то, что место, с которого снимается слой, становится подверженным эрозии и другим разрушительным воздействиям.

1.5.2 Промывка почвы

Промывка почвы – это процесс обработки *ex situ*, применимый к широкому спектру органических, неорганических и радиоактивных загрязнителей в почве.

Он включает в себя использование жидкости, иногда в сочетании с химическими добавками и механическим инструментом для очистки почвы. Это удаляет опасные загрязняющие вещества и концентрирует их в меньшие объемы.

Опасные химикаты легко прилипают к илу и глине, как и к частицам песка и гравия. Поэтому при промывке почвы ил и глина механически отделяются от незагрязненной крупнозернистой почвы. Загрязненный мелкий песок может быть утилизирован или обработан соответствующим образом, а крупный песок сохраняется в качестве засыпки. Поэтому он используется в основном как метод предварительной обработки для окончательной очистки почвы.

1.5.3 Экстракция паров почвы

Этот метод представляет собой относительно простой физический процесс очистки почвы, загрязненной сырой нефтью. Экстракция паров почвы предполагает использование специально разработанной системы для удаления летучих веществ (например, сырой нефти) из почвы в виде паров.

Процесс осуществляется путем подачи вакуума через систему подземных скважин, которые вытягивают загрязняющие вещества на поверхность в виде пара или газа. Иногда для усиления процесса вводится воздух. Экстракция паров почвы часто используется для удаления из почвы хлорированных углеводородов.

1.5.4 Термическая десорбция

Это более современный метод очистки. Он предполагает нагревание загрязненных сырой нефтью почв до температуры 200–1000°F, при которой загрязняющие вещества с низкой температурой кипения физически отделяются из почвы.

Этот метод также называют низкотемпературным термическим десорбированием или низкотемпературной термической волатилизацией из-за использования низкой температуры. Его также называют термической зачисткой или обжигом почвы.

В большинстве случаев при термической десорбции загрязняющие углеводороды испаряются и воспламеняются. Оставшиеся побочные продукты удаляются из системы конвекцией и обрабатываются фильтрами или повторным зажиганием второй ступени или системой очистки выбросов в атмосферу.

Термическая десорбция имеет три основных недостатка. Она дорогая, трудоемкая и опасная. Однако термическая десорбция представляется очень перспективным методом очистки загрязненной сырой нефтью почвы, поскольку она проста и позволяет избежать всех трудностей, связанных с выемкой грунта для утилизации или очистки.

1.5.5 Сжигание

Это подразумевает сжигание загрязняющих веществ с поверхности почвы с помощью огня. При высоких температурах происходит сжигание, при котором опасные отходы, включая сырую нефть, уничтожаются из почвы, а токсичные элементы уменьшаются до основных элементов (в основном водорода, углерода, хлора и азота). Затем основные элементы соединяются с кислородом и образуют стабильные нетоксичные вещества, такие как вода, диоксид углерода и оксиды азота.

Воспламенение и горение сырой нефти часто затруднено из-за быстрой потери более легковоспламеняющихся и летучих компонентов в результате испарения. Загрязненные почвы, как правило, сначала выкапываются и вывозятся на объекты за пределами площадки перед сжиганием.

К недостаткам сжигания мусора относятся: высокие эксплуатационные расходы из-за большого количества энергии, большая занимаемая площадь и опасность загрязнения окружающей среды.

1.6 Биологическая очистка загрязненной нефтью почвы

Биологическая очистка включает использование микроорганизмов, растений и других биологических систем для очистки загрязненной нефтью почвы. Биологические процессы используются для очистки вынутых грунтов, насыщенных и ненасыщенных грунтов *in situ* и восстановленных грунтовых вод.

1.6.1 Микробная деградация и ремедиация сырой нефти

Биоразложение органических отходов является все более важным методом переработки отходов. Биоразложение имеет много преимуществ – использование недорогого оборудования, экологически чистый характер процесса и простота.

Микроорганизмы играют важную роль в очистке загрязненной сырой нефтью среды. Использование микроорганизмов в очистке нефтяного разлива происходит после того, как большое количество нефти было удалено различными физическими и химическими методами.

Различные роды бактерий выбирают различные типы углеводов для деградации (таблица 2), и они также могут работать как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Таблица 2 – Бактериальные роды, разлагающие три основные группы углеводов [17, 18]

Углеводы	Бактериальные роды
Парафины	<i>Acinetobacter</i>
	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Nocardia</i>
	<i>Ochrobactrum</i>
Нафтены	<i>Achromobacter</i>
	<i>Bacillus</i>
	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Achromobacter</i>
Полициклические углеводороды	ароматические
	<i>Achromobacter</i>
	<i>Bacillus</i>
	<i>Agrobacterium</i>
	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Mycobacterium</i>

Биоремедиация сырой нефти из почвы является очень эффективным, дешевым и экологически чистым решением. Эффективность этого метода зависит от концентрации гидрокарбона, характеристик почвы и состава поллютантов. Мицелий грибов очень полезен в деградации углеводов благодаря своей способности к проникновению, он также способствует проникновению бактерий в глубокие слои почвы. Грибковые ферменты лакказы, пероксидаза лигнина и пероксидаза марганца разлагают углеводороды путем их окисления. Деградация сырой нефти была показана некоторыми представителями следующих родов грибов: *Candida*, *Stropharia*, *Rhodotorula*, *Pleurotus*, *Penicillium*, *Phanerochaete* (таблица 3) [19, 20, 21].

Таблица 3 – Краткая характеристика деградации нефтепродуктов с помощью микроорганизмов

1 Аэробный путь	Деградация осуществляется внутри цитоплазматической мембраны или на клеточной поверхности.
Процесс	<p>Продукт окисления транспортируется внутрь клетки, где микроорганизмы окисляют молекулу углерода через ферменты оксигеназы, в который входит молекула кислорода. Это приводит к гидроксированному углеводороду (спирту), более реакционноспособной молекуле.</p> <p>Окисление: Спирт → альдегид → карбоновая кислота → молекула жирной кислоты → разлагается на ацетил-КоА путем β-окисления. Этот процесс окисления может происходить в атомах углерода, уступая место двум жирным кислотам.</p>

Роды бактерий, подвергавшиеся деградации	Ферменты оксидазы вмешиваются в пути метаболизма обоих алканов, таких как ароматические углеводороды, бактериями рода <i>Mycobacterium</i> , <i>Rhodococcus</i> и <i>Pseudomonas</i> , а также грибами рода <i>Aspergillus</i> и <i>Fusarium</i> .
2 Анаэробный путь	Когда загрязнение не поверхностное с использованием различных акцепторов электронов (NO ₃ , Fe, SO ₄ , CH ₂)
Процесс	Анаэробная деградация протекает медленнее, чем аэробная. Кроме того, он требует меньше энергии, то есть рост (и усвоение) происходит медленнее
Роды бактерий, подвергавшиеся деградации	Среди микроорганизмов, способных анаэробно разлагать углеводороды, обнаружены: штамм <i>Rhodopseudomonas palustris</i> , штамм <i>Magnetospirillum magicum</i> , <i>Azoarcus sp.</i> Штамм <i>EbN1</i> , <i>Geobacter metallireducens GS-15</i> и <i>Syntrophus aciditrophicus</i> .

На микробную ремедиацию загрязненной почвы влияет множество факторов, таких как количество воды, температура и pH почвы, концентрация кислорода, качество почвы и количество питательных веществ. Изменение любого из этих факторов может снизить популяцию микробов и, в свою очередь, уменьшить биоремедиацию.

Микробная активность может быть ускорена с помощью стратегий биоусиления и биостимуляции. Эти методы показали, что биоаугментация и биостимуляция при совместном использовании эффективно восстанавливают загрязненную углеводородами сырой нефти почву. Таким образом, биостимуляция в сочетании с биоаугментацией обеспечили эффективные результаты в деградации загрязняющих веществ сырой нефти [22].

Различные типы поверхностно-активных веществ, производимых многими микроорганизмами, называются биосурфактантами. Эти биосурфактанты повышают биодоступность углеводородов для микробов и, в свою очередь, усиливают их деградацию сырой нефти. Использование микробов, вырабатывающих биосурфактанты, является хорошим выбором для биоремедиации, так как этот процесс дешевый, нетоксичный и эффективно разлагается. Поэтому исследователи обратили свое внимание на такие микробы, которые могут разлагать нефтепродукты.

1.6.2 Фиторемедиация

Фиторемедиация является эффективной, солнечной и недорогой стратегией, которая использует растения для удаления загрязняющих веществ из почвы на большой загрязненной территории.

Фиторемедиация относится к использованию растительных видов для очистки *in situ* земельных участков, загрязненных различными опасными веществами. Были разработаны различные типы фиторемедиации. Они включают фитоэкстракцию, которая основана на естественной способности

растений поглощать определенные вещества (например, тяжелые металлы) из окружающей среды и сохранять их в своих клетках до тех пор, пока растение не будет собрано, фитодеградацию – способ, с помощью которого растения переводят органические загрязнители в нетоксичную форму, фитостабилизацию, когда растение выделяет определенные химические вещества, которые связываются с загрязняющим веществом, делая его менее биодоступным и менее подвижным в окружающей среде, и фитоволитизация – процесс, в ходе которого растения извлекают загрязняющие вещества из почвы и затем превращают их в газ, который можно безопасно выбросить в атмосферу.

Были предприняты попытки повысить эффективность фиторемедиаторов путем генетической модификации. Гены из различных источников, включая млекопитающих и микроорганизмы, вводятся в виды растений, что приводит к созданию новых классов фиторемедиаторов, способных извлекать вредные тяжелые металлы из загрязненной почвы [23].

Фиторемедиация является экологически безопасной, визуально привлекательной и более экономически эффективной, чем традиционные методы восстановления. Более того, структура почвы в значительной степени сохраняется. При всех преимуществах фиторемедиация имеет и некоторые недостатки, а именно: она требует много времени, ограничена при высоких концентрациях загрязняющих веществ и имеет ограниченную область применения [24].

2 Объект, материалы и методика исследований

2.1 Объект исследования

Внешние параметры почвы. В качестве объекта была взята почва с территории университета К. И. Сатпаева, которая обладала морфологическими свойствами, такими как:

- коричневато-бурый окрас;
- крупнозернистая структура;
- уплотненное сложение почвы;
- включения, состоящие из биоморфов (остатки корневых систем, стволов и стеблей дерева) и литоморфов (камни, гальки).

2.2 Материалы исследования

Оборудования и приборы. Исследования по микробиологии проводили с использованием оборудования и приборов, таких как:

- автоклав;
- термостат;
- ламинарный бокс биологической безопасности второго класса;
- дозатор;
- электронные весы;
- магнитная мешалка.

Основные технические характеристики оборудования и приборов перечислены в таблице 4.

Таблица 4 – Используемые оборудования [25-27]

Название	Параметр	Назначение
Автоклав ВК-75-01 (рисунок 1)	Т=120 °С. Р=1,1 атм. Объем стерилизационной камеры, л. – 75. Размеры камеры, мм. – 400×600. Внешние размеры, мм. – 700×560×1150. Масса, кг. – 120.	Стерилизация.
Термостат ТС-80 (рисунок 1)	Масса, кг. – 40. Размеры термостата, мм. – 525×521×721. Размеры камеры, мм. – 396×393×496	Культивирование.
Ламинарный бокс (рисунок 1)	Скорость воздушного потока – 0,3 м/с. Внешние размеры, мм. – 900×640×750. Рабочее пространство, мм. – 885×450×590.	Работа с биологическими объектами в стерильных условиях.



Рисунок 1 – Оборудование для микробиологического исследования (а) автоклав; б) термостат; в) ламинарный бокс).

Питательная среда и лабораторная посуда. Для микробиологических исследований были использованы готовые питательные среды компании «HiMedia» Plate Count Agar (рисунок 2).

Состав питательной среды:

- 1 гидролизат казеина 5 граммов;
- 2 дрожжевой экстракт 2,5 граммов;
- 3 глюкоза 1 грамм;
- 4 агар-агар 15 граммов.

Внешний вид представляет собой однородный сыпучий порошок от кремового до желтого цвета. Цвет и прозрачность приготовленного средства характеризует светло-желтым прозрачным гелем на чашках Петри [28].

Лабораторная посуда, использованная в ходе исследовательских работ:

- Чашки Петри (диаметром 90 мм и 35 мм),
- Пробирки (с хлопковым и марлевым наполнителем),
- Колбы (объемом 250 мл, 500 мл),
- Шпатель Дригальского,
- Одноразовые носики для дозатора,
- Лабораторная ложка,



Рисунок 2 – Питательная среда для микробиологических исследований

2.3 Методы исследования

Все микробиологические испытания проводились согласно установленным стандартам.

1 Отбор проб выполнялся в соответствии ГОСТ 17.4.4.02–2017 [29].

2 Приготовление стеклянной лабораторной посуды для проведения испытаний, где соблюдали ГОСТ ISO 7218–2015 [30].

3 Приготовление питательных сред проводили по инструкции, наклеенной производителем на товарной банке со смесью.

Инструкция:

– суспензировать 23,5 грамма в 1000 мл дистиллированной воды;

– нагревание до полного растворения среды;

– стерилизацией в автоклаве;

– перемешивания и разлив на чашки Петри [28].

4 Разлив питательной среды в чашки Петри проводили предварительно перед посевом согласно ГОСТ ISO 7218–2015 [30].

5 Согласно ГОСТ 26670–91 был принят поверхностный метод посева микроорганизмов на питательные среды [31].

3 Результаты исследования

3.1 Подготовка объекта к исследованию

Как было ранее расписано приготовление питательных сред было взято 5,8 граммов порошка с добавлением 250 мл воды. Полученная питательная среда отправляется в автоклав для стерилизации при температуре 112°C на протяжении 45 минут (рисунок 3).



Рисунок 3 – Стерилизация питательной среды в автоклаве

По вышеупомянутой методике выполнялся отбор проб.

Пробы были отобраны на участке, исключая нефтезагрязнения с последующим модельным загрязнением нефтью.

Модельное загрязнение нефти было произведено на основе сведений центрального совета по контролю за загрязнением, где допустимый предел концентрации углеводородов нефтяной группы в почве должен быть 5000 мг/кг [32]. В результате был проделан перерасчет на 600 граммов почвы, что составляло 3000 мг/г.

Отобранная почва была размещена в трех разных посудах (рисунок 4). Каждая из данных лабораторных посуд составляет свой опыт: почва без добавления биопрепарата, с добавлением в почву биопрепарата (концентрация – 0,5 граммов) с добавлением в почву биопрепарата (концентрация – 1 грамм).

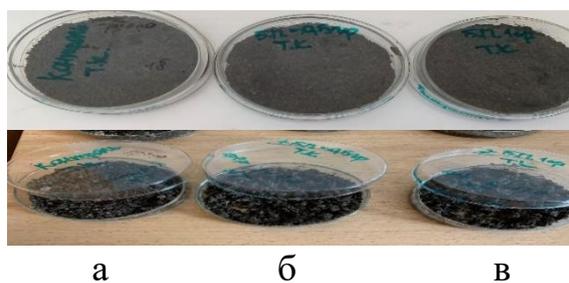


Рисунок 4 – Название почв по чашкам Петри (а) почва, загрязненная нефтью - «Контроль»; б) почва, загрязненная нефтью с добавлением 0,5 граммов биопрепарата - «Опыт 1»; в) почва, загрязненная нефтью с добавлением 1 грамм биопрепарата - «Опыт 2»)

Ниже представлены рисунки с пробами почвы и биопрепарата (рисунок 5).



Рисунок 5 – Пробы почвы с добавлением биопрепарата (а) пробы загрязненной почвы; б) биопрепарат)

3.2 Перевод модельных образцов почв в раствор

Разведения проводили согласно указанному стандарту во 2-й главе методики. Для подготовки посевного материала использовали метод разведения. Суть метода заключается в использовании разбавителя, дистиллированной воды, для понижения концентрации микроорганизмов путем смешения с девятикратным количеством жидкости (рисунок 6).

Разведения:

0 – 1 грамм почвы с добавлением 100 мл воды;

1 – 1 мл из нулевого разведения с добавлением 9 мл воды (1:1000);

2 – 1 мл из первого разведения с добавлением 9 мл воды (1:10000).

В итоге со 2-го разведения был взят 0,05 мл жидкости дозатором для перенесения на чашки Петри. В ходе перевода образцов почв в раствор были осуществлены перемешивание в течение 15 минут.



Рисунок 6 – Разведение навески почвы

3.3 Посев и культивирование микроорганизмов

В вышеизложенном тексте стерилизованная питательная среда разливалась на чашки Петри диаметром 35 мм (рисунок 7), для дальнейшего посева микроорганизмов. Таким образом с помощью перевода образцов в жидкое состояние путем разведения дозатором извлекли 0,05 мл жидкости и вносили в питательную среду, где работаем шпателем Дригальского для равномерного распределения микроорганизмов по всей чашке Петри. Вышло 6 чашек Петри (2 повторности) с 3 почвами с разными сведениями. Все лабораторные методы выполнялись в ламинарном боксе 2-м классом защиты.

Просеянные на питательные среды культуры переносят в термостат при температуре 28°C для культивирования (рисунок 8).



Рисунок 7 – Разлив питательной среды в ламинарном боксе



Рисунок 8 – Питательные среды в термостате при температуре 28°C

3.4 Культуральные свойства штаммов микроорганизмов, выделенных из нефтезагрязненных почв

Расшифровка:

Контроль – загрязненная почва нефтью;

Опыт 1 – загрязненная почва нефтью с добавлением 0,5 граммов биопрепарата;

Опыт 2 – загрязненная почва нефтью с добавлением 1 грамм биопрепарата.

Изучали скорость роста через 24, 48 и 120 часов. В ходе работы было использовано 6 чашек Петри (2 повторности) с 3 почвами с разными сведениями (рисунки 9 и 10).

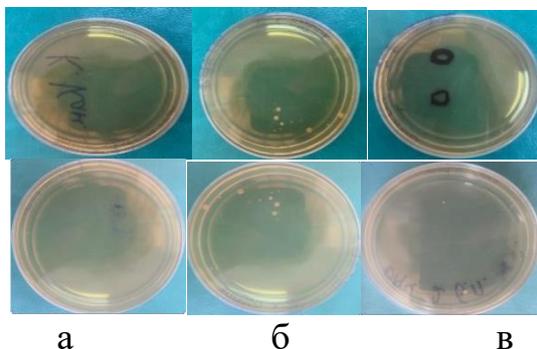


Рисунок 9 – Колонии микроорганизмов после 24 часов культивирования (а) «Контроль»; б) «Опыт 1»; в) «Опыт 2»).

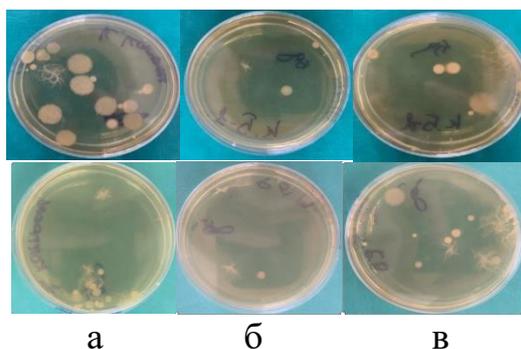


Рисунок 10 – Колонии микроорганизмов в конце эксперимента после 24 часов культивирования (а) «Контроль»; б) «Опыт 1»; в) «Опыт 2»).

По истечении нужного времени был проведен подсчет колоний микроорганизмов с дальнейшим их описанием. Данные приведены в таблицах 5–8. Все культуральные свойства оказались идентичны между повторностями с изменением числового количества колоний между ними.

Таблица 5 – 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 , %
Контроль	0	-	22 ± 3	19,27
Опыт 1	$11,5 \pm 1,5$	18,43	$5,5 \pm 1,5$	38,2
Опыт 2	3 ± 1	47	$13,5 \pm 1,5$	15,5

Таблица 6 – Скорость роста выделенных штаммов микроорганизмов на плотной питательной среде

Опытная группа	Время контроля		
	Начало эксперимента		
	24	48	120
Контроль	-/-	18/25	120/133
Опыт 1	10/13	35/47	145/164
Опыт 2	2/4	38/53	218/229
	Конец эксперимента		
Контроль	19/25	49/57	148/152
Опыт 1	4/7	55/66	158/169
Опыт 2	12/15	78/88	224/239

Таблица 7 – Культуральные свойства микроорганизмов в начале эксперимента в течение 24 ч культивирования

Культуральные свойства								
Колонии	Профиль	Форма	Край	Размер	Поверхность	Оп.св-ва.повер.	Цвет	Структура
Опыт 1								
Колония	бугристый	округлая	гладкий	точечный	бугристая	прозрачная	белый	мелкозернистая
Опыт 2								
Колония	бугристый	сложная	ворсистый	точечный	бугристая	матовая	белый	мелкозернистый
Контроль								
Колония	-	-	-	-	-	-	-	-

Таблица 8 – Культуральные свойства микроорганизмов в конце эксперимента в течение 24 ч культивирования

Культуральные свойства								
Колонии	Форма	Профиль	Край	Размер	Поверхность	Оп.св-ва.повер.	Цвет	Структура
Контроль								
Колония №1	круглая	бугристый	гладкий	средние	шероховатая	мутные	белый	однородная
Колония №2	круглая фестончатым краем	бугристый	волнистый	крупные	шероховатая	мутные	белый	однородная
Колония №3	нитевидная	бугристый	ветвистый	крупные	шероховатая	мутные	белый	волокнистая
Опыт 1								
Колония №1	круглая	выпуклый	гладкий	мелкий	гладкая	мутные	белый	однородная
Колония №2	круглая фестончатым краем	бугристый	волнистый	средний	шероховатая	мутные	белый	однородная
Колония №3	нитевидная	бугристый	ветвистый	средний	шероховатая	мутные	белый	волокнистая
Опыт 2								
Колония №1	круглая	выпуклый	гладкий	мелкий	гладкая	мутные	белый	однородная
Колония №2	круглая фестончатым краем	бугристый	ветвистый	крупный	шероховатая	мутные	белый	однородная
Колония №3	концентрическая	бугристый	ветвистый	средний	шероховатая	мутные	белый	однородная

Колония №4	нитевидная	бугристый	волнистый	крупный	шероховатая	мутные	белый	волокнистая
------------	------------	-----------	-----------	---------	-------------	--------	-------	-------------

Проводя исследования по скорости роста микроорганизмов были построены графики зависимости между количеством колоний и время культивирования в начале и в конце эксперимента (рисунок 11).

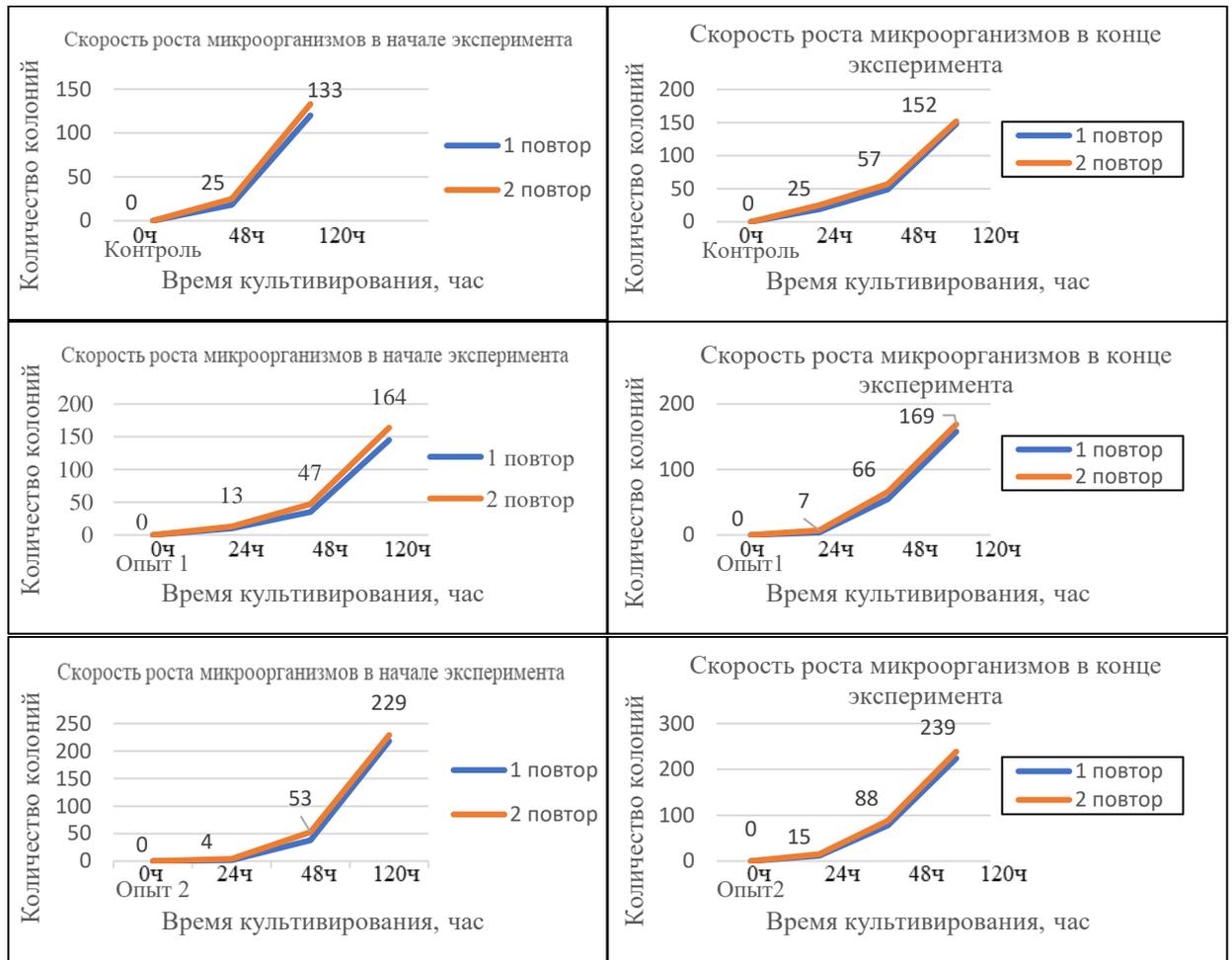


Рисунок 11 – Скорости роста выделенных штаммов микроорганизмов (диаграмма а) начало эксперимента; б) конец эксперимента)

Фазы развития культуры выделенных из загрязненной почвы нефтью:

1 лаг-фаза – не происходит заметного увеличения численности микроорганизмов.

2 фаза ускоренного роста – быстрое накопление штаммов микроорганизмов.

3 фаза линейного роста – время интенсивного экспоненциального размножения. Период характеризуется увеличением скорости и численности клеток в геометрической прогрессии.

3.5 Результаты биологической очистки нефти в почве

Модельное загрязнение нефти было произведено на основе сведений центрального совета по контролю за загрязнением, где допустимый предел концентрации углеводородов нефтяной группы в почве должен быть 5000 мг/кг. В результате был проделан перерасчет на 600 граммов почвы, что составляло 3000 мг/г.

Результаты химического анализа по сокращению нефти в почве (рисунок 12):

– в варианте опыта с внесением 0,5 граммов биопрепарата отмечали снижение концентрации нефти со 100 до 72,7% (27,3%);

– в варианте с внесением 1 грамма биопрепарата отмечали снижение концентрации нефти со 100 до 70,3% (29,7%).

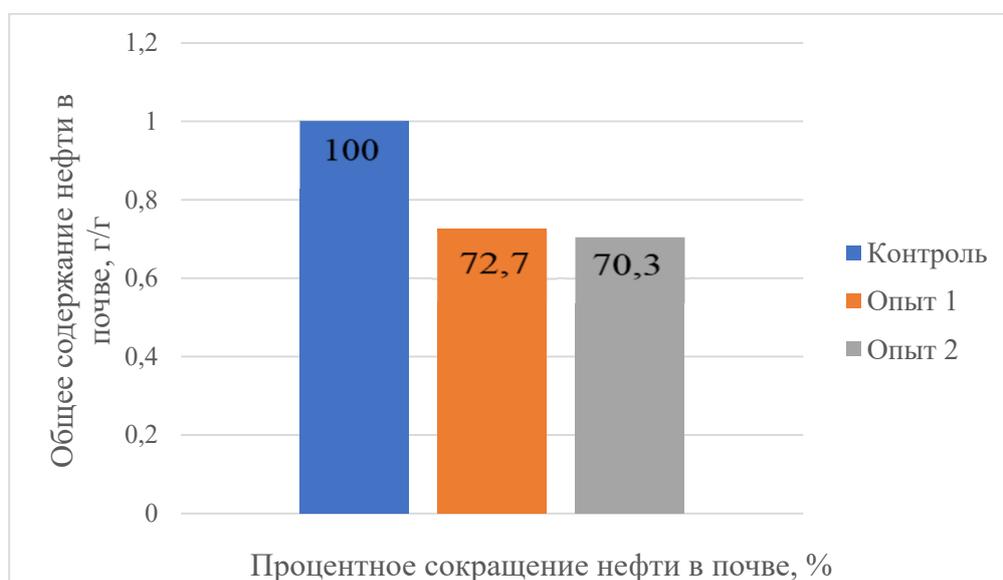


Рисунок 12 – Общее содержание нефти в почве

Из полученных результатов было обнаружено эффективность использования биопрепарата с большей концентрацией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотрены и изучены культуральные свойства штаммов микроорганизмов с добавлением бактериального препарата с разными концентрациями. Был изучен способ очистки грунтов от нефтяных загрязнений и выполнен химический анализ биологической очистки.

Выводы:

- изучены ключевые биологические свойства штаммов микроорганизмов, где оптимальная температура роста при 24 часов культивирования составляет 28°C;
- изучены фазы развития культуры выделенных из загрязненной почвы нефтью с помощью построения кинетической кривой роста микроорганизмов;
- выявлена деградация нефти в процентном соотношении: опыт 1 – 27,3%; опыт 2 – 29,7% с использованием штаммов микроорганизмов с добавлением биопрепарата.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Abioye O.P. Biological remediation of hydrocarbon and heavy metals contaminated soil // Edited by Simone Pascucci, 2011. – PP. 127–142.
- 2 Adipah S. Introduction of petroleum hydrocarbons contaminants and its human effects // J. Environ. Sci. Public Health, 2018. – vol. 3. – PP. 001–009.
- 3 Wang, S.; Xu, Y.; Lin, Z.; Zhang, J.; Norbu, N.; Liu, W. The harm of petroleum-polluted soil and its remediation research // American Institute of Physics Inc, 2017. – vol. 1864. – PP 020222.
- 4 Wang, S.; Xu, Y.; Lin, Z.; Zhang, J.; Norbu, N.; Liu, W. The harm of petroleum-polluted soil and its remediation research // Aip Conf. Proc, 2017. – vol.1864. – PP. 20-22.
- 5 Kachieng'a, L.; Momba, M.N.B. Kinetics of petroleum oil biodegradation by a consortium of three protozoan isolates (*Aspidisca* sp., *Trachelophyllum* sp. and *Peranema* sp.) // Biotechnol. Rep, 2017. – vol.15. – PP. 125-131.
- 6 Klokk J. Effect of oil pollution on the germination and vegetative growth of five species of vascular plants // Journal of Environmental Management, 1984. – vol. 2. – PP. 25-30.
- 7 Adam G., Duncan H. Influence of diesel oil on seed germination // Environmental Pollution, 2002. – vol. 120. – PP. 363-37.
- 8 Amakiri J.O., Onofeghara F.A. Effects of crude oil pollution on the germination of *Zea mays* and *Capsicum frutescens* // Environmental Pollution, 1984. – vol. 35. – PP. 159-167.
- 9 Wiese F.K., Ryan P.C. The extent of chronic marine oil pollution in Southeastern Newfoundland waters assessed through beached bird surveys 1984-1999 // Marine pollution bulletin, 2003. – vol. 46. – PP. 1090-1101.
- 10 Genotoxicity associated to exposure to Prestige oil during autopsies and cleaning of oil contaminated birds // Food and chemical toxicology, 2006. – vol. 44. – PP. 1714-1723.
- 11 W. Weisman, Ed. Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media (Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series) // Amherst Scientific Publishers, 1998. – vol. 1. – PP. 98.
- 12 E. V. Lau, S. Gan, and H. K. Ng. Extraction techniques for polycyclic aromatic hydrocarbons in soils // International Journal of Analytical Chemistry, 2010. – vol. 2010. – PP. 139-140.
- 13 Dionex Corporation. Extraction of total petroleum hydrocarbon contaminants (diesel and waste oil) in soils by accelerated solvent extraction (ASE) // Dionex Application Note, 2000. – vol.338. – PP. 2011.
- 14 Washington State Department of Ecology (WSDE). Analytical methods for petroleum hydrocarbons // Publication Department of Ecology Publications Distribution Center. 1997. – vol. 97-602. – PP. 137.
- 15 United States Environmental Protection Agency (USEPA) // Method 9071B: N-hexane Extractable Material (HEM) for Sludge, Sediment, and Solid Samples. 1998. – vol. 2. – PP. 22.

16 J. E. Cortes, A. Suspes, S. Roa, C. González, and H. E. Castro. Total petroleum hydrocarbons by gas chromatography in Colombian waters and soils. // *American Journal of Environmental Sciences*, 2012. – vol. 8. – PP. 396–402.

17 Balba M.T., Al Awadhi N., Al Daher R. (1998) Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation // *Journal of Microbiological Methods*, 1998. – vol. 32(2). – PP. 155-164.

18 Abou Shanab R.A., Eraky M., Haddad A.M., Abdel-Gaffar A.R.B, Salem A.M. Bioremediation Technology Potential for Management of Soil and Water Pollution from Anticipated Rapid Industrialization and Planned Oil and Gas Sector in Uganda // *Department of Agricultural and Biosystems Engineering*, 2016. – vol. 97(5). – PP. 684-688.

19 Xenia M., Refugio R. Microorganisms Metabolism during Bioremediation of Oil Contaminated Soils // *Department of biotechnology and bioengineer*, 2016. – vol. 7. – PP. 340.

20 Cerniglia C.E. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation // *J Ind Microbiol Biotechnol*, 1997. – vol. 19. – PP. 324-333.

21 Akpor O., Igbinosa O.E., Igbinosa O. (2007) Studies on the effect of petroleum hydrocarbon on the microbial and physico-chemicals characteristics of soil // *Afr J Biotechnol*, 2007. – vol. 6. – PP. 1939-1943.

22 Vogel T. Bioaugmentation as an approach to soil bioremediation // *Current opinion in biotechnology*, 1996. – vol. 7. – PP. 311-316.

23 Garcia Sánchez M., Košnář Z., Mercl F., Aranda E., Tlustoš P. Comparative study to evaluate strategies of natural attenuation, mycoaugmentation, phytoremediation and phytoremediation using microorganisms for bioremediation of old soil contaminated with PAHs // *Ecotoxicol Environ Saf*, 2017. – vol. 147. – PP. 165-174.

24 Farraji H., Zaman N., Tajuddin R., Faraji H. Advantages and disadvantages of phytoremediation A brief overview // *International Journal of Environment and Technology*, 2016. – vol. 2. – PP. 69-75.

25 Автоклав ВК-75–01, Технические характеристики. URL: https://www.nv-lab.ru/catalog_info.php?ID=2598 (дата обращения: 8.05.2022).

26 Термостат ТС-80, Технические характеристики. URL: https://www.nv-lab.ru/catalog_info.php?ID=107 (дата обращения: 8.05.2022).

27 Ламинарный бокс TopAir Systems, Технические характеристики. URL: <https://altey.name/tablet/> (дата обращения: 8.05.2022).

28 Питательная среда Plate Count Agar, Технические характеристики. URL: imedialabs.com/TD/M091.pdf (дата обращения: 8.05.2022).

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

30 ГОСТ ISO 7218–2015. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям. – Введ. 2016–07–01. – Москва. : Изд-во стандартов, 2016. – 24 с.

31 ГОСТ 26670–91. Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов. – Введ. 1993–01–01. – Москва. : Изд-во стандартов, 1992. – 2с.

32 P. Tamizhduraia, N. Sakthipriyab. Field studies on monitoring the marine oil spill bioremediation site in Chennai // Process Safety and Environmental Protection, 2022. – vol. 163. – PP. 227-235.

РЕЦЕНЗИЯ

НА ДИПЛОМНУЮ РАБОТУ

ТЛЕЙБЕРГЕНОВОЙ КАМИЛЛЫ САБИТҚЫЗЫ

«Биотехнология» - 5В070100

На тему: «Физико-химические и микробиологические основы очистки нефтезагрязненных почв»

Выполнено:

- а) графическая часть на 10 листах;
- б) пояснительная записка на 34 страницах.

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Дипломная работа Тлейбергеновой К. С. представляет собой законченное исследование, состоящее из следующих ключевых разделов: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования и заключение. Впервые была изучена почва с модельным загрязнением нефти путем биологической очистки с последующим аналитическим методом измерения концентрации загрязнения.

В обзоре литературы были рассмотрены ключевые физико-химические и биологические методы очистки почв от нефтяных загрязнений.

Во втором разделе приведены данные по объекту, материалам и методике для расчетных исследований.

В разделе результаты исследования была проделана работа по изучению культуральных свойств микроорганизмов, выделенных из нефтезагрязненной почвы, а также выполнен анализ биологической очистки, свидетельствующий о наличии процентного сокращения нефти в почве.

Дипломная работа соответствует требованиям государственного стандарта, направлению и профилю профессиональной подготовки студента.

Данная работа имеет практическую значимость, что вследствие может быть использована в нефтяной сфере Казахстана.

Существенных недостатков работа не имеет.

Оценка работы

Дипломная работа соответствует предъявляемым требованиям и заслуживает оценки «отлично», автор Тлейбергенова Камилла Сабитқызы достойна степени бакалавра по специальности 5В070100 - «Биотехнология».

Рецензент
кандидат биологических наук, доцент
кафедры биотехнологии
факультета биологии и биотехнологии
КазНУ имени Аль-Фараби;
Садвакасова А. К.

(подпись)

« 31 » 05 2022 г.

Отзыв руководителя

на дипломную работу Тлейбергеновой К. С.

студентки кафедры ХИБИ.

специальность: Биотехнология

“Физико-химические и микробиологические основы очистки нефтезагрязненных почв”

Основные замечания по дипломной работе и характеристика студента

Темой дипломной работы Тлейбергеновой Камиллы является Физико-химические и микробиологические основы очистки нефтезагрязненных почв.

Тлейбергенова Камилла осуществила анализ модульного загрязнения почвы нефтью и на основе обзора современной научной и научно-технической литературы ею был предложен подход в биологической очистке с дальнейшим учетом деградации нефти с помощью химического анализа. Данная работа заключается в изучение культурально-морфологических свойств микроорганизмов, выделенных с загрязненного объекта с последующим способом очистки. Дипломная работа написана на основе современных статистических данных и статей ученых, авторитетных в данной области.

Хотелось бы отметить, что Тлейбергенова Камилла в ходе выполнения дипломной работы осуществила глубокое изучение литературного материала, применила полученные теоретические знания на практике для изучения штаммов микроорганизмов, которое может осуществить современный способ биологической очистки в процессе удаления нефти и нефтепродуктов в грунте, в результате деградации химических соединений. За время выполнения диплома Тлейбергенова Камилла соблюдала сроки календарного графика и проявила отличные навыки работы, проявила себя грамотным специалистом, способным решить задачи по очистке почвы.

Оценка дипломной работы

Дипломная работа Тлейбергеновой Камиллы выполнена на высоком научном уровне. В целом полно и точно раскрыла тему дипломной работы. Недостатков обнаружено не было. Работа допускается к защите. Рекомендуемая оценка – «отлично».

Руководитель:



Рафикова Х.С., доктор PhD, асоц.
профессор



Метаданные

Название

2022_БАК_Тлейбергенова К.docx

Автор

Тлейбергенова К.

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 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		0
Интервалы		0
Микропробелы		20
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		15

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

6675

Количество слов



КЦ

52646

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	«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии Pseudomonas aeruginosa » 5/6/2019 Satbayev University (ИХИБТ)	16	0.24 %
2	https://xreferat.com/113/4166-1-puti-uluchsheniya-ispol-zovaniya-osnovnyh-fondov-predpriyatiiy-neftegazovoy-otrasli-respubliki-kazahstan.html	16	0.24 %
3	https://xreferat.com/113/4166-1-puti-uluchsheniya-ispol-zovaniya-osnovnyh-fondov-predpriyatiiy-neftegazovoy-otrasli-respubliki-kazahstan.html	15	0.22 %

4	https://xreferat.com/113/4166-1-puti-uluchsheniya-ispol-zovaniya-osnovnyh-fondov-predpriyatiiy-neftegazovoiy-otrasli-respubliki-kazahstan.html	15	0.22 %
5	https://xreferat.com/113/4166-1-puti-uluchsheniya-ispol-zovaniya-osnovnyh-fondov-predpriyatiiy-neftegazovoiy-otrasli-respubliki-kazahstan.html	15	0.22 %
6	https://xreferat.com/113/4166-1-puti-uluchsheniya-ispol-zovaniya-osnovnyh-fondov-predpriyatiiy-neftegazovoiy-otrasli-respubliki-kazahstan.html	15	0.22 %
7	«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии Pseudomonas aeruginosa» 5/6/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	14	0.21 %
8	«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии Pseudomonas aeruginosa» 5/6/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	13	0.19 %
9	«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии Pseudomonas aeruginosa» 5/6/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	13	0.19 %
10	«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии Pseudomonas aeruginosa» 5/6/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	12	0.18 %

из базы данных RefBooks (0.00 %)

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

из домашней базы данных (2.49 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	«Мониторинг чувствительности к антибактериальным препаратам бактерии Pseudomonas aeruginosa» 5/6/2019 Satbayev University (ИХиБТ)	161 (18)	2.41 %
2	2021_БАКИДО Максотова Диана Саматовна-рев1.docx 1/22/2022 Satbayev University (ИГИНГД)	5 (1)	0.07 %

из программы обмена базами данных (0.00 %)

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

из интернета (1.53 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	https://xreferat.com/113/4166-1-puti-uluchsheniya-ispol-zovaniya-osnovnyh-fondov-predpriyatiiy-neftegazovoiy-otrasli-respubliki-kazahstan.html	86 (6)	1.29 %
2	https://studopedia.info/2-15948.html	16 (2)	0.24 %

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)