

**Спанкулова Гульжан Абикулқызының**  
«БD070100 – Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD)  
ғылыми дәрежесін алу үшін ұсынылған «**Мұнай және мұнай өнімдерімен**  
**ластанған Қызылорда облысының топырақтарын биоремедиациялау**  
**әдісін өңдеу»** диссертациялық жұмысына  
**АҢДАТПА**

**Диссертациялық зерттеудің жалпы сипаттамасы.** Бұл диссертациялық жұмыс мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған Қызылорда облысының топырақтарын биоремедиациялау әдісін өңдеуге арналған.

**Диссертациялық жұмыстың өзектілігі.** Қазіргі заманда мұнай әлемдегі негізгі және сұранысқа ие энергия көздерінің бірі болып табылады. Мұнай өндіру қарқынын арттыру, жаңа кен орындарын ашу, мұнай тасмалдау және көмірсутек шикізатын экспорттаушы жетекші елдердің бірі болу – мұнай өндіру аймақтарында қоршаған ортаны тазартудың тиімді әдістерін әзірлеу бойынша зерттеулер жүргізуге басымдық береді. Қазақстанда экологиялық күйзеліс аймақтарының ішінде мұнай өндіру және өңдеу жүзеге ауыруда Қызылорда облысы ерекше орын алады. Өңірде жұмыс істейтін мұнай-газ кешендерінің қызметі нәтижесінде біршама күрделі экологиялық жағдай, топырақтың мұнай және мұнай өнімдерімен ластануы қалыптасады.

Мұнай-газ кешенінің қазіргі даму деңгейінде оның қоршаған ортаға тигізетін кері әсерін толығымен жою мүмкін емес. Тазалаудың механикалық және физика-химиялық әдістеріне келер болсақ, олардында мүмкіндіктерінің шектеулі болуына байланысты қоршаған ортаны мұнай ластануынан тазарту проблемасы өзекті болып отыр. Топырақты мұнайдан өзін-өзі тазарту процестерінде микроорганизмдердің әсері шешуші маңызды рөл атқарады. Ластанған топырақты тазартудың белгілі биотехнологиялық әдістерінің көпшілігі микроорганизмдердің таза және де бірнеше штамдарды қосып пайдаланып және олардың белсенділігін арттыру арқылы пайдалануға негізделген.

**Жұмыстың мақсаты:** тиімді көмірсутекті тотықтырғыш микроорганизм ассоциацияларын қолдану негізінде Қызылорда облысының мұнаймен ластанған топырақтарын биоремедиациялау әдісін әзірлеу.

**Зерттеу жұмысының міндеттері:**

1. Қызылорда облысының мұнаймен ластанған топырақтарынан белсенді деструктор-микроорганизмдерді бөліп алу және іріктеу;
2. Микроорганизмдерді таксономиялық жүйелеу үшін іріктелген белсенді штамдарды идентификациялау;
3. Бөліп алынған микроорганизм штамдарының көмірсутекті тотықтырғыш қабілетін зерттеу;
4. Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдердің тиімді ассоциациясын құру;

5. Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер ассоциацияларының мұнай және мұнай өнімдерін тазалауда модельдік тәжірибелер жүргізу.

**Зерттеу объектілері.** Көмірсутек тотықтыратын микроорганизмдерді бөліп алу үшін Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағы пайдаланылды. Зерттеу жұмысында Қызылорда облысы, Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан бөлінген бактериялық штамдар қолданылды.

**Зерттеу әдістері:** Зерттеу барысында дәстүрлі микробиологиялық (Кох әдісі, микроскопия әдісі, перпендикулярлы штрих әдісі және т.б.), биохимиялық, молекулалық-генетикалық (16S pPHK ген фрагменттерін секвенирлеу) және физика-химиялық (гравиметриялық әдіс, колориметриялық әдіс, спектрофотометриялық әдіс, газды хроматографиялық әдіс) зерттеу әдістері қолданылды.

#### **Зерттеу жұмысының ғылыми жаңалығы.**

Алғаш рет Қызылорда облысы Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан мұнай тотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді штамдары *Tessaracoccus sp.* және *Alcanovorax sp.* бөлініп алынды.

Алғаш рет *Rhodococcus sp.* 1D/1; *Gordonia sp.* 12/5; *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамдары мұнайды, мазутты, дизельді отынды және қозғалтқыш майларын, сонымен қатар ароматты (фенол, орто-, пара-, мета-крезол) және ПАК-ді (нафталин, фенантрен, антрацен) деструкциялауда жоғары қабілеттілік көрсетті.

Белсенді штамм-деструктор-бактериялар негізінде мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер штамдарының ассоциациялары құрылды. Ассоциация I (*Rhodococcus sp.* 1D/1, *Tessaracoccus sp.* 13/8, *Dietzia sp.* 13/4) және Ассоциация II (*Gordonia sp.* 12/5, *Dietzia sp.* 12/7, *Rhodococcus erythropolis* 14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3) мұнай және мұнай өнімдерінің (мазут, дизельдік отын) n-алкандарын, n-алкилдерін, тармақталған тізбекті, ароматты және полициклді ароматты көмірсутектерін ыдырататындығы анықталды.

Мұнаймен ластанған топырақтардан бөліп алынған мұнай және мұнай өнімдерінің көмірсутектерін деструкциялаушы-бактериялардың штамдарын қолдану негізінде Қызылорда облысының топырақтарын биоремедиациялау әдісі әзірленді.

#### **Зерттеудің теориялық маңыздылығы мен практикалық құндылығы.**

Мұнайды, мазутты, дизельді отынды, сондай-ақ ароматты (фенол, катехол, орто-, пара-, мета-крезол) және полициклді ароматты көмірсутектерді (нафталин, фенантрен, антрацен) тиімді ыдырататын мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер топтамасы құрылды.

Қызылорда облысы, Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан бөлініп алынған белсенді көмірсутек тотықтырғыш бактерия штамдарының 16S pPHK нуклеотидтер тізбегі GenBank-те тіркелген. жарияланған және штамдарға кіруге арналған тіркеу нөмерлері: *Rhodococcus sp.* 1D/1 - MF188988.1; *Gordonia sp.* 12/5 - MF188989.1; *Dietzia sp.* 12/7 - MF188990.1; *Dietzia sp.* 13/4 - MF188991.1; *Tessaracoccus sp.* 13/8 - MF188992.1; *Rhodococcus*

*erythropolis* 14/1 - MF188993.1; *Rhodococcus sp.* 14/3 - MF188994.1; *Arthrobacter sp.* 15/3 - MF188995.1; *Microbacterium arabinogalactanolyticum* 12/6 - MF188996.1; *Pseudomonas sp.* 14/2 - MF188997.1; *Microbacterium sp.* 16/1 - MF188998.1; *Alcanovorax sp.* 16/3 - MF188999.1.

Таңдалған белсенді штамдар мен олардың негізінде құрылған ассоциациялар мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтарды биоремедиациялау үшін қолданылатын биологиялық препараттар жасаудың негізі бола алады.

Өзірленген әдіс мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтарды қалпына келтіру тиімділігін арттыруға мүмкіндік беретіні және бұл аймақтың экологиялық жағдайына тиімді әсер ететіні сөзсіз. Жұмыстың нәтижелерін одан әрі биотехнологиялық зерттеулерге және Қазақстандағы мұнаймен ластанған топырақтарды қалпына келтірудің кешенді технологияларын жасап шығаруға мүмкіндік жасайды.

### **Қорғауға ұсынылатын ережелер:**

1. Мұнаймен ластанған топырақтан бөліп алынған көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдерге скрининг жүргізу мұнайда, мұнай өнімдерінде, ароматты және ПАК-де өсетін штамдарды таңдауға мүмкіндік берді.

2. Белсенді штамдар *Rhodococcus sp.* 1D/1; *Gordonia sp.* 12/5; *Rhodococcus erythropolis* 14/1 мұнайды, мазутты, дизельді отынды және қозғалтқыш майларын ыдыратуға, сонымен қатар ароматты (фенол, катехол, орто-, пара-, мета-крезол) және ПАК-ді (нафталин, фенантрен, антрацен) ыдыратуға жоғары қабілетілік көрсетті.

3. Мұнайотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларын органикалық-минералды тыңайтқыштармен бірге қолданғанда Қызылорда облысының ластанған топырақтарын тазалап қалпына келтіру процесін 1,5-2 есеге дейін арттыратыны анықталды.

### **Зерттеудің негізгі нәтижелері мен қорытындылары:**

Жұмыста алынған нәтижелер келесі қорытындылар жасауға мүмкіндік береді:

1. Қызылорда облысы Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырақтарынан көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің 182 штаммы бөлініп алынды. Мұнайды ең тиімді, әрі белсенді деструкциялаушыларын таңдау үшін іріктеу жүргізілді, нәтижесінде сұйық минералды қоректік ортада мұнай мен мұнай өнімдерін (мазут, дизельді отын) – 14 тәулікте белсенді түрде 43,9-88,8% деструкциялайтын 12 штамм таңдап алынды.

2. Биотехнология үшін жаңа тиімді көмірсутектотықтырғыш бактериялардың штамдары сипатталды – *Rhodococcus sp.* 1D / 1; *Gordonia sp.* 12/5; *Dietzia sp.* 12/7; *Dietzia sp.* 13/4; *Tessaracoccus sp.* 13/8; *Rhodococcus erythropolis* 14/1; *Rhodococcus sp.* 14/3; *Arthrobacter sp.* 15/3; *Microbacterium arabinogalactanolyticum* 12/6; *Pseudomonas sp.* 14/2; *Microbacterium sp.* 16/1; *Alcanovorax sp.* 16/3. Штамдардың 16S рРНҚ нуклеотидтер тізбегі GenBank-те

тіркеу нөмірлерімен тіркелген: № MF188988.1; № MF188989.1; № MF188990.1; № MF188991.1; № MF188992.1; № MF188993.1; № MF188994.1; № MF188995.1; № MF188996.1; № MF188997.1; № MF188998.1; № MF188999.1.

3. Мұнайтотықтырғыш микроорганизмдерден таңдап алынған штамдардың көмірсутектотықтырғыш белсенділігін зерттеу нәтижесі олардың деструктивті қабілеті жоғары екенін көрсетті. Штамдарды 14 тәулікте көмірсутектермен 3% және 5% құрамда өсіруде мұнайдың деградация дәрежесі сәйкесінше 46,5-82,3% және 45,1-81,0%, мазут – 58,3-86,4% және 54,8-81,2%, дизельді отын – 40,5-72,4% және 35,8-69,7% құрады. Ең белсенді штамдар 12/5, 12/7, 13/8, 14/1, 15/3, 12/6 және 1D/1 болды.

4. Зерттеудің нәтижесі бойынша мұнайтотықтырғыш микроорганизмдерден бөлініп алынған белсенді штамдардың арасынан үш штамм *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus erythropolis* 14/1 және *Rhodococcus sp.* 1D/1 жоғары дәрежеде ыдырататын қасиетке және де ароматты көмірсутектерді (нафталин, фенантрен, антрацен, фенол, катехол, орто-, пара-, мета-крезол) толық ассимиляциялау мүмкіндіктеріне ие болды.

5. Таңдап алынған белсенді жоғары деструктор микроорганизмдер негізінде Құмкөл кен орнының мұнайын және мазут пен дизельді отынды белсенді түрде ыдыратуға қабілеті жоғары ассоциациялар құрылды. Ең тиімдісі бактериялардан тұратын екі ассоциация болды *Rhodococcus sp.* 1D/1, *Tessaracoccus sp.* 13/8, *Dietzia sp.* 13/4 (Ассоциация I) және *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus erythropolis* 14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3, *Dietzia sp.* 12/7 (Ассоциация II). Өсірудің 14 тәулігінде 7% құрамдағы мұнайдың жойылуы сәйкесінше 77,5% және 78%, мазут – 74,5% және 73,7%, дизельді отын – 67,1% және 61,8% құрады.

6. Зертханалық модельдік тәжірибеде мұнайтотықтырғыш микроорганизмдер ассоциациялары мен органоминералды тыңайтқыштарды бірлесіп қолдану топырақты мұнай мен мұнай өнімдерінен тиімді тазартуға ықпал еткенін көрсетті. Үш айдың ішінде топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерінің мөлшері сәйкесінше 5% және 10% ластану кезінде 62,4-85,7% және 60,1-78,4% төмендеді. Бұл ретте ассоциация II жоғары белсенділік танытқаны байқалды.

7. Қызылорда облысында мұнаймен ластанған топырақтарды биоремедиациялау әдісін әзірлеу үшін шағын учаскелік далалық зерттеулер жүргізілді. «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС тәжірибелік зауытында мұнайтотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциациялары (ассоциация I және ассоциация II) негізінде биологиялық препараттардың тәжірибелік партиялары әзірленді. Топырақтың ең тиімді тазартылуы ассоциация II мен органоминералды тыңайтқыштарды бірлесе қолданғанда байқалғаны анықталды. Топырақтағы ластану деңгейі 5,7% және 7,2%-да мұнай мөлшері 2 айдан кейін 73,4% және 70,7% төмендеді.

Диссертацияда қойылған барлық міндеттер орындалды.

**Автордың жеке үлесі.** Зерттелетін мәселеге қатысты әдеби деректерді талдауды, тәжірибелік зерттеулер жүргізуді, алынған нәтижелерді талдауды және статистикалық өңдеуді, диссертацияны мазмұндауды автордың өзі жасады.

**Жұмыстың сыннан өтуі.** Диссертацияның материалдары келесі халықаралық ғылыми конференцияларға ұсынылып және талқыланды:

- Бесінші халықаралық конференция «Экологиялық инженерия және қоршаған ортаны қорғау», 2017 ж. Пловдив, Болгария.

- Экологиялық өнеркәсіптік және қолданбалы микробиология бойынша VII халықаралық конференция. Қазан 2017 ж. Мадрид, Испания.

- Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция, «Ғылымның өзекті мәселелері», 2018. Алматы, Қазақстан.

- XV Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция, «Қазіргі ғылымдардың өзекті мәселелері», . 07 -15 июнь 2019. Пшэмысль, Польша.

**Жарияланымдар.** Зерттеу материалдары бойынша ашық баспасөзде 10 ғылыми жарияланым жарияланды. Оның ішінде 2 мақала Thomson Reuters деректер базасына енгізілген; Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Білім және ғылым саласында сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған республикалық ғылыми журналдарда 3 мақала; Конференция материалдарында 2 мақала және 1 тезис, Микробиология және вирусология журналында 1 мақала. Сондай – ақ өнер табысқа патент (№ 34047 (2019) алынды.

**Диссертацияның құрылымы.** Диссертация 125 бетінде ұсынылған және белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен әдістерден, нәтижелер мен талқылаудан, қорытындылардан, 235 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен 16 кестеден, 25 суреттен және 3 қосымшадан тұрады.