Муниципальное бюджетное образовательное учреждение "Школа № 6 с углубленным изучением французского языка" города Рязани

Конкурсная работа

на тему: **«Бактерии биоочистители»**

Выполнил: ученик 8Б класса

Тумаков Даниил Николаевич

Руководитель: учитель биологии и химии

МБОУ «Школы №6 с углубленным изучением французского языка»

Черкалина Юлия Сергеевна

Консультант: доцент, кандидат педагогических наук, Ускова Н.П.

Рязань 2022.

Оглавление

[Введение 3](#_Toc120556812)

[Глава 1. НЕФТЬ И СПЕЦИФИКА НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ. 5](#_Toc120556813)

[1.1.Характеристика нефтепродуктов – загрязнителей почвенных и водных ресурсов 5](#_Toc120556814)

[1.2.Основные пути загрязнения почвы нефтепродуктами 5](#_Toc120556815)

[1.3. Биологические последствия нефтяных загрязнений 6](#_Toc120556816)

[1.4.Способы устранения нефтяных загрязнений 7](#_Toc120556817)

[1.4.1. Самоочищение почвы от нефти и нефтепродуктов 7](#_Toc120556818)

[1.4.2.Механические методы 7](#_Toc120556819)

[1.4.3. Физико-химические методы 8](#_Toc120556820)

[1.4.4. Биологические методы 8](#_Toc120556821)

[ГЛАВА II. Бактерии биоочистители 10](#_Toc120556822)

[2.1. Характеристика микроорганизмов-деструкторов нефтепродуктов 10](#_Toc120556823)

[2.2 Механизм микробной деградации нефтяных загрязнений 11](#_Toc120556824)

[Глава 3. Изучение процесса деградации нефтепродуктов под влиянием бактерий-деструкторов. 12](#_Toc120556825)

[3.1. Принцип метода. 13](#_Toc120556826)

[3.2. Анализ результатов 14](#_Toc120556827)

[Заключение. 23](#_Toc120556828)

[Список литературы. 25](#_Toc120556829)

# Введение

Нефть – ископаемая маслянистая горючая жидкость со специфическим запахом от темно-бурого до черного цвета, состоящая преимущественно из смеси различных углеводородов.

Актуальность данной работы обусловлена тем, что нефть и продукты ее переработки занимают одну из лидирующих позиций в топливно-энергетическом балансе многих стран мира. Из нефти получают смазочные масла, различные виды топлив, такие как бензин, реактивное и дизельное топливо, керосин, смазочные масла, воска. Человек нашел применение даже гудрону, оставшемуся после перегонки более легких фракций нефти, его используют в качестве одного из компонентов дорожных покрытий. Продукты вторичной нефтепереработки плотно вошли в быт людей в виде синтетических тканей, каучука, резины, различных пластмасс и полимерных пленок.

Ежегодно только Россия добывает около 570 млн тонн сырой нефти. В 2019 году в России добывалось нефти 10,8 млн баррелей в сутки. Это третий показатель в мире после США (15 043 000 баррелей в сутки) и Саудовской Аравии (12 млн баррелей в сутки). По данным на 2020 год Россией было добыто 10,5 млн баррелей.

*Актуальность:* С расширением возможностей использования нефтепродуктов, увеличивается количество нефтяных отходов и повышаются риски загрязнения окружающей среды. Места захоронения таких отходов представляют серьезную угрозу для окружающей среды, а многочисленные аварии и неисправности при добыче, переработке и транспортировке сырой нефти и нефтепродуктов могут стать причиной масштабной экологической катастрофы.

Самоочищение природных объектов занимает большое количество времени, поэтому проблемы, связанные с биоразрушением сырой нефти и нефтепродуктов вызывали огромный интерес у экспертов и ученых на протяжении долгого времени.

Самым перспективным методом решения проблемы загрязнений нефтепродуктами является применение микроорганизмов-деструкторов углеводородов. Данный метод все чаще применяется на практике и характеризуется высокой способностью к утилизации как сырой нефти, так и продуктов ее переработки. Использование биопрепаратов приводит к увеличению скорости очищения природных объектов.

*Цель исследования* – исследование процессов биодеградации нефти и нефтепродуктов под воздействием микроорганизмов-деструкторов.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие *задачи:*

• дать определение нефти, раскрыть его характеристики и химический состав;

• выявить основные способы попадания нефти, нефтепродуктов и нефтяных отходов в окружающую среду.

• описать последствия нефтяных загрязнений.

• рассмотреть возможные варианты очистки почв и водоемов от нефти и нефтепродуктов.

• проанализировать эффективность биоочистки в различных условиях.

• сравнить эффективность деструкции нефти при различных условиях.

Работа проведена на кафедре химии «Рязанского государственного университета имени С.А. Есенина» под руководством доцента, кандидата педагогических наук, Усковой Н.П.

# Глава 1. НЕФТЬ И СПЕЦИФИКА НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ.

## 1.1.Характеристика нефтепродуктов – загрязнителей почвенных и водных ресурсов

Основой нефти и нефтепродуктов являются такие элементы как углерод, водород. Составная часть углерода в нефти 81-88%, водорода – 12-14%. Помимо основных составляющих в нефти содержатся: азот (до 2%), кислород (до 4%), сера(до 2%), фосфор(до 1%) и другие.

Нефть составляют три основные группы углеводородов:

* Парафиновые углеводороды с обще формулой CnH2n+2
* Нафтеновые углеводороды CnH2n
* Ароматические углеводороды CnH2n-6

Групповой состав нефти определяет её химические и физические свойства.

## 1.2.Основные пути загрязнения почвы нефтепродуктами

При добыче, транспортировке, переработке и хранении нефти неизбежно происходят чрезвычайные ситуации, которые происходят из-за несовершенства производства, и которые способны повлечь за собой экологическую катастрофу.

По последним данным общие потери нефти и нефтепродуктов составляют около 50 млн.т. в год. В районах с развитой нефтедобывающей промышленностью содержание нефтепродуктов в почве достигает 500 мг на килограмм сухого веса почвы. [4]

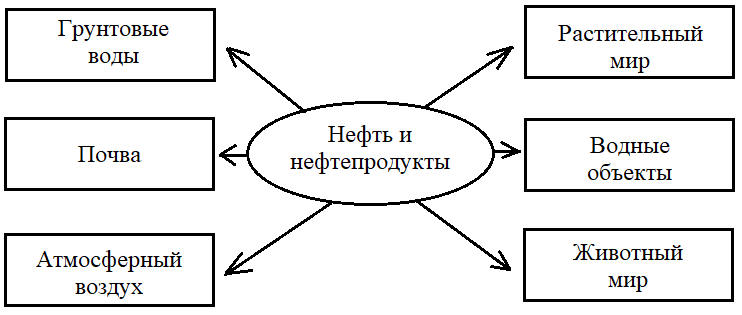


Схема 1. Пути поступления нефти и нефтепродуктов в окружающую среду.

## 1.3. Биологические последствия нефтяных загрязнений

Из-за аварий на нефтедобывающих установках, при доставке нефти происходит не только утрата нефтепродуктов, но и наносится значительный вред близлежащим природным объектам: почвам, водоемам, атмосферному воздуху. Скопление нефтепродуктов может приводить к образованию горючих смесей с воздухом и, как следствие, к пожарам, задымлениям, нанесению ущерба фауне и человеку, истреблению природных богатств.

Таблица 1 - Объекты воздействия и виды воздействий

|  |  |
| --- | --- |
| Объект воздействия: | Последствия: |
| 1. Население (здоровье, имущество) | Ухудшение состояния здоровья, смерти людей, связанные с попаданием в организм токсичных веществ через воздух, воду; непосредственное воздействие на  человека происходит в основном через биопродукцию (особенно  гидробионтов); ущерб или полная потеря имущества в результате  пожаров и взрывов. |
| 1. Объекты жизнеобеспечения:   (источники водоснабжения; автомобильные и железные дороги, речные переправы и речной транспорт); электроснабжение; зоны отдыха (пляжи, курорты)) | Загрязнение нефтепродуктами водосборных колодцев; выход из  строя или ограниченное использование объектов  водоснабжения; нарушение транспортных путей,  инженерных коммуникаций, линий электропередач,  тепло- и электростанций |
| 3. Объекты производственной и  социальной сферы (сельскохозяйственные угодья, рыболовство) | Загрязнения сельскохозяйственных угодий,  деградация плодородного слоя земли;  производственных площадей; нарушение  судоходства; невозможность рыболовства;  загрязнение подземных вод как источников  водоснабжения |
| 4. Объекты окружающей  среды (атмосферный воздух; водоемы и подземные воды; почва; растительность; животный мир: рыба, птица, дикие животные, насекомые; особо охраняемые природные  территории (заповедники, памятники  природы, заказники и др.)) | Углеводородное загрязнение почв и водоемов при испарении и утечках нефтепродуктов; загрязнение воздуха продуктами горения; проливание кислотных дождей.  Загрязнение нефтью в результате утечек, особенно при авариях на дне водоемов, загрязнение технологическими химреагентами и другими отходами; разрушение водоносных структур в грунтах, откачка подземных вод и их сброс в  водоемы; потеря потребительских или вкусовых свойств воды и продуктов промысла; гибель озер.  Исчезновение редких видов растений. Гибель планктона и других групп живых организмов; исчезновение редких видов животных.  Разрушение и повреждение экосистем. |

## 1.4.Способы устранения нефтяных загрязнений

Рекультивация земель – это комплекс мероприятий, направленных на восстановление продуктивности и хозяйственной ценности нарушенных и загрязненных земель.

Задача рекультивации – снизить содержание нефтепродуктов и находящихся с ними других токсичных веществ до безопасного уровня, восстановить продуктивность земель, утерянную в результате загрязнения

### 1.4.1. Самоочищение почвы от нефти и нефтепродуктов

На скорость самоочищения почвы от нефти и нефтепродуктов влияет исходная концентрация и их тип, а также почвенно-климатические условия. Наиболее быстрое снижение концентрации наблюдается в первые несколько месяцев с момента загрязнения. Это обусловлено в первую очередь процессами испарения легких фракций. Далее процесс замедляется и зависит в больше степени от почвенной микробиоты.

### 1.4.2.Механические методы

Очистка механическим способом представляет собой либо сор нефтепродуктов вручную, либо применение специализированных механизмов и техники. Обычно, перед применением данного метода производят локализацию загрязнений путем создания вала из земли высотой около метра. Затем из места разлива нефть перекачивают в специальный котлован-отстойник, построенный заранее и представляющий собой углубление в земле, застеленное специальным материалом, не пропускающим нефть и продукты нефтепереработки. Далее нефть отправляют либо на специализированный склад, либо на дальнейшую переработку. [5]

Используя механическую очистку, можно избавиться от 80% нефтепродуктов.

1.4.3. Физико-химические методыШирокое применение нашли сорбционные методы. В качестве сорбентов используются как природные, так и синтетические материалы органического и неорганического происхождения. [3]

Наиболее простым в исполнении и выгодным способом очистки территорий от нефти и нефтепродуктов является сжигание. Однако этот способ является наиболее токсичным и малоэффективным так как:

1. Сжигание возможно только в том случае, когда нефть лежит на поверхности воды толстым слоем, в противном случае горение не будет поддерживаться.

2. На местах, где был применён данный метод, продуктивность почвы восстанавливается долгие годы, либо не восстанавливается совсем, а среди продуктов горения всегда остаются токсические и канцерогенные вещества.

### 1.4.4. Биологические методы

Расщепление нефти в почве в естественных условиях – это процесс биогеохимический, главную роль в котором играют микроорганизмы способные расщеплять нефтепродукты на углекислый год и воду.

Ранее считалось, что микроорганизмы, способные ликвидировать углеводороды нефти и нефтепродуктов, встречаются только там, где располагаются нефтяные залежи и нефтехранилища, но согласно современным данным, микроорганизмы-нефтедеструкторы встречаются в природе практически везде и могут быть выделены из любой почвы, осадочных пород, речной и даже морской воды. Окисление углеводородов происходит с помощью оксигеназ - ферментов, осуществляющих включение кислорода в концевую группу углеводорода.

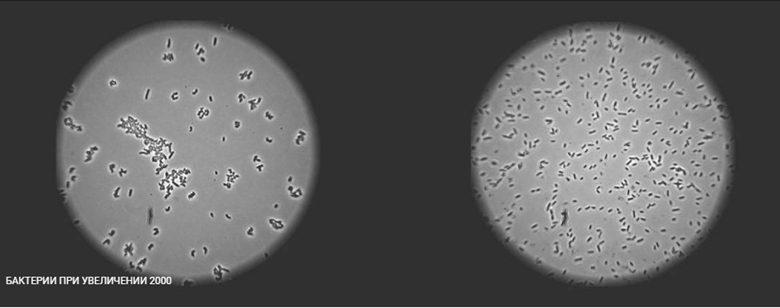


Рис.3 Микроорганизмы-деструкторы нефтепродуктов.

Микроорганизмы-деструкторы являются гетеротрофными организмами, так как способны усваивать и другие органические соединения (белки, жиры, углеводы). Численность данных микроорганизмов определяется в основном типом климата, структурой почв и степенью ее обработки.

# ГЛАВА II. Бактерии биоочистители

## 2.1. Характеристика микроорганизмов-деструкторов нефтепродуктов

Большинство нефтяных углеводородов, встречающихся в окружающей среде, в конечном счете разлагаются или метаболизируются бактериями из-за их потребности в энергии и углероде для роста и размножения. Действительно, многие исследования показали, что существует большое количество бактерий, разлагающих углеводороды.

*Pseudomonas spp.* Ее можно выделить в небольших количествах из самых разных сред, включая почву и воду, ее легко найти практически в любой среде, подверженной воздействию человека или животных.

Организм может использовать более 100 органических молекул в качестве источника углерода для получения энергии, как правило, обладает способностью расти на среде с минимальным содержанием солей с единственным источником углерода. Это важная почвенная бактерия, способная расщеплять полициклические ароматические углеводороды, но ее также часто обнаруживают в водоемах, загрязненных животными и людьми, таких как сточные воды и раковины внутри и снаружи больниц. [10]

*Artrobacter spp.* грамположительные бактерии-деструкторы полициклических ароматических углеводородов, чаще всего выделяемые из почв. Бактерии обладают необычным жизненным циклом, при котором происходит смена формы клеток организмов.

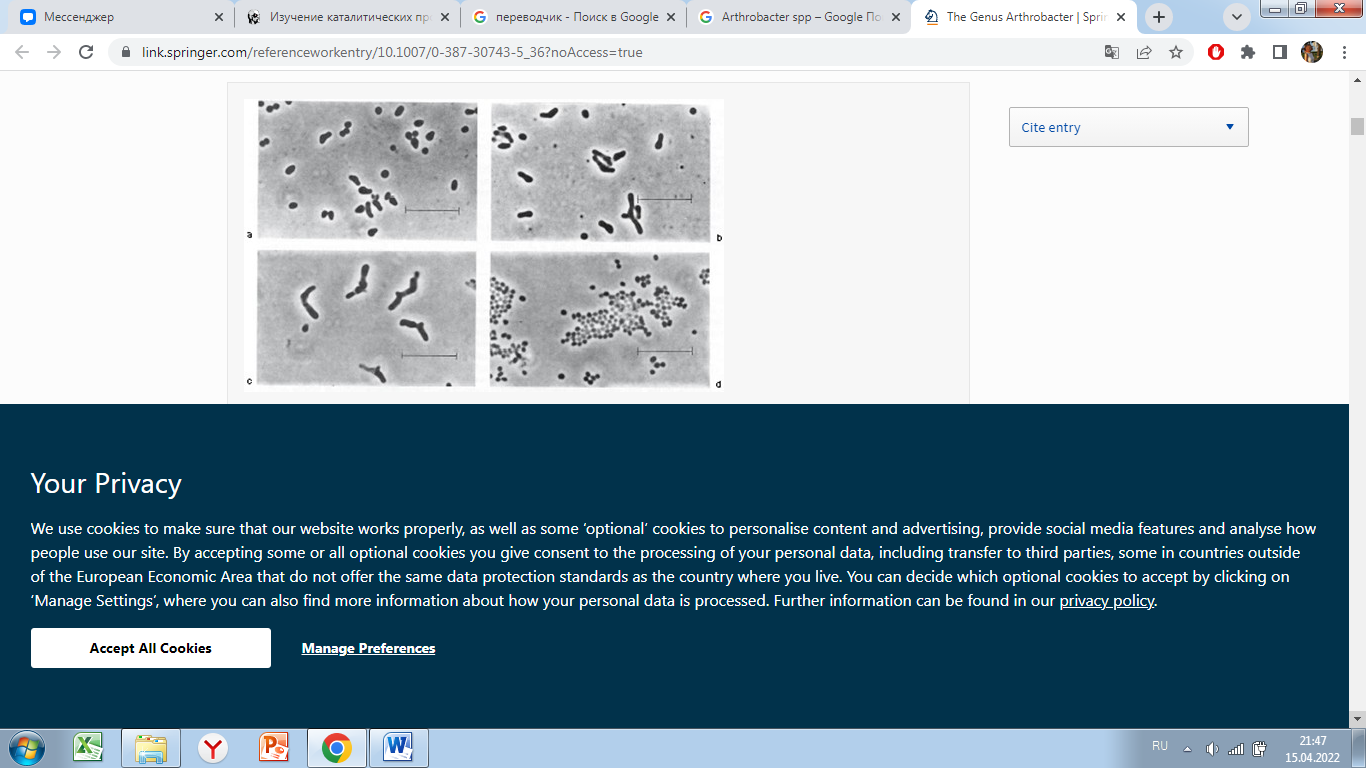


Рис.7 Изменение бактериями рода Artrobacter spp. своей жизненной формы

## 2.2 Механизм микробной деградации нефтяных загрязнений

Разложение нефтяных углеводородов микроорганизмами в основном обусловлено катализом внутриклеточных ферментов. Процесс микробной деградации нефтяных углеводородов имеет четыре основных этапа:

Во-первых, нефтяные загрязнители эмульгируются поверхностно-активными веществами, выделяемыми микроорганизмами;

Во-вторых, эмульгированный нефтяной углеводород адсорбируется поверхностью микроорганизма;

В-третьих, нефтяной углеводород, адсорбированный на поверхности клеточной мембраны, проникает в клеточную мембрану через активный транспорт или пассивный транспорт, эндоцитоз.

В-четвертых, нефтяные углеводороды, поступающие клетка подвергается ферментативной реакции с соответствующим ферментом для достижения цели разложение загрязнителя. [8]

Способность к разложению нефтяных углеводородов в микроорганизмах является решающим фактором в устранение загрязнений.

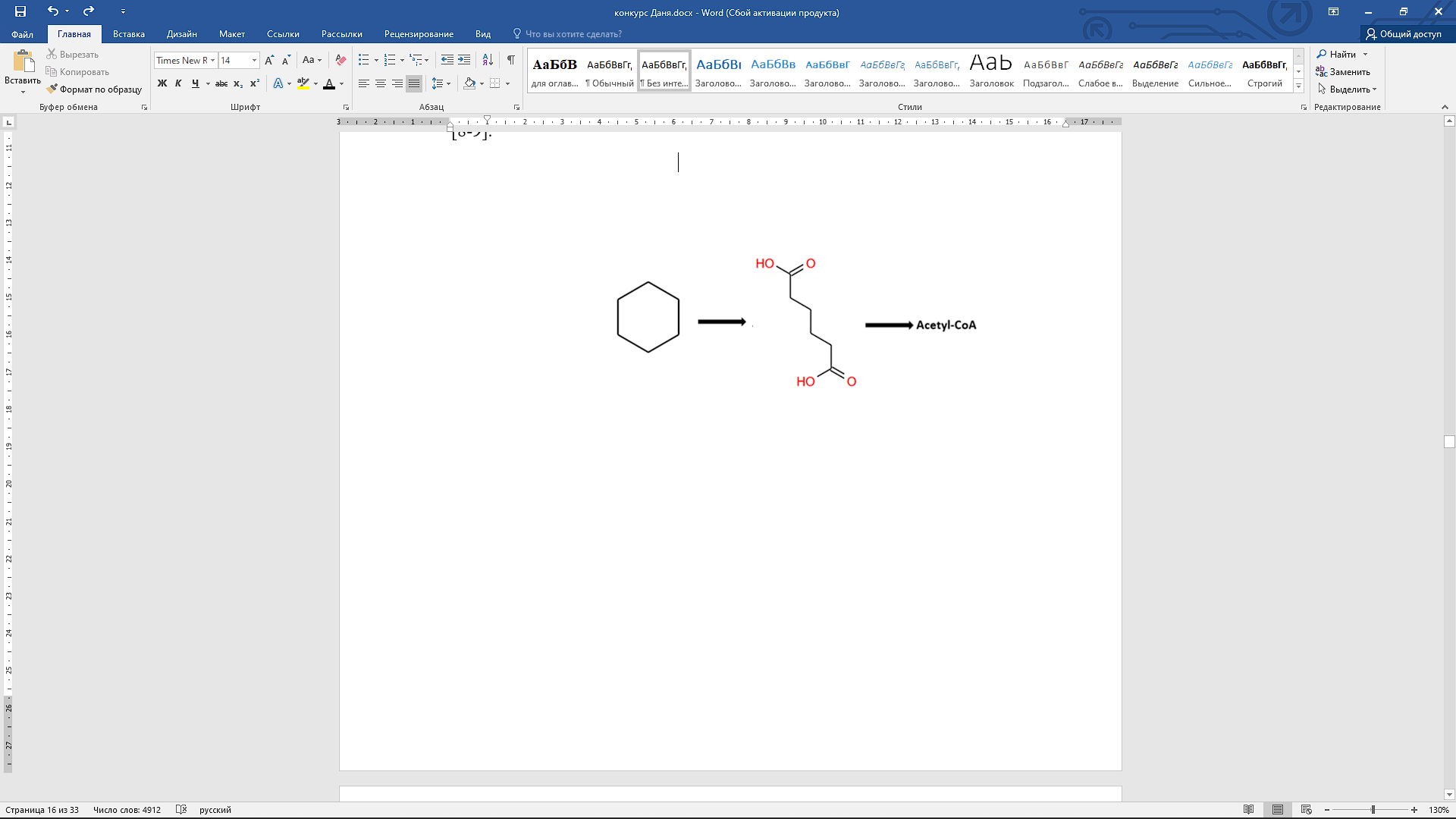


Схема 3. Схема разложения циклоалкана под действием нефтеокисляющих бактерий.

Циклоалкан, проходя несколько стадий превращается в дикарбоновую кислоту, которая подвергается дальнейшему окислению через цикл трикарбоновых кислот для поддержания жизнедеятельности микроорганизма [8-9].

# Глава 3. Изучение процесса деградации нефтепродуктов под влиянием бактерий-деструкторов.

*Цель эксперимента:* выяснение эффективности использования бактерий-деструкоров нефтепродуктов в качестве биоочистителей природных объектов от нефтепродуктов.

Одним из возможных методов изучения процессов микробного окисления нефтепродуктов является метод внесения штаммов чистых культур бактерий в жидкую питательную среду с добавлением солей и нефтепродуктов.

Метод позволяет определить массу нефтепродуктов, которую способны окислить специализированные бактерии за определенные промежутки времени и при различно температуре.

Для проведения эксперимента мы использовали питательную среду Ворошиловой-Диановой, вазелиновое масло (Состоит из смеси насыщенных парафиновых алифатических углеводородов: от С10 до С15) и два штамма бактерий: род Pseudomonas spp. и Artrobacter spp.

Для приготовления 1 литра питательной среды для культивирования бактерий потребовалось:

1. NH4NO3 – 1грамм

2. K2HPO4 – 1 грамм

3. KH2PO4 – 1 грамм

4. MgSO4·7H2О - 0,2 грамма

5. CaCl2·6Н2О - 0,02 грамма

6. FeCl3·6Н2О (насыщенный раствор) - 2 капли

7. Дистиллированная вода – 1 литр

После растворения всех компонентов среды в дистиллированной воде, раствор стерилизуется.

## 3.1. Принцип метода.

Вазелиновое масло в качестве источника углерода вводилось в 25 колб с подготовленной питательной средой в количестве 0,4г вазелинового масла на 50мл среды для каждого из штаммов бактерий. Первая колба рассматривается как контрольная и остается в исходном виде. В оставшиеся 24 колбы с помощью петли Мора вводятся по 0,01г бактерий.

Для определения активности бактерий при разной температуре, колбы разделили на 2 части: первую часть поставили в термостат с постоянной температурой 25°С, вторую – охладили до постоянной температуры 4°С.

Через 3 дня по 3 колбы из холодильника и термостата с помощью делительной воронки промывались 30мл гексана от остатков питательной среды. Растворенные в гексане остатки вазелинового масла сливали в предварительно взвешенный химический стакан и ставили на электрическую плитку, подогревая до 35°С до полного испарения гексана.

Оставшееся на дне стакана после полного испарения гексана масло взвешивается на аналитических весах с точностью до четвертого знака после запятой. Полученная масса сравнивается с контрольной колбой, не засеянной микроорганизмами.

Для мониторинга активности бактерий-деструкторов эксперимент был повторен на 7, 14 и 21день.

## 3.2. Анализ результатов

После проведения 2 этапов эксперимента, для бактерий рода *Pseudomonas spp.* были получены следующие результаты:

Масса масла в контрольной пробе составила 0,4092г.

1. На третий день эксперимента:

Таблица 2. Результаты эксперимента на 3 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер ста-кана | Тем-пера-  тура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелино-вого масла, m2 | Масса вазелино-  вого масла после проведения экспери-  мента,  m3 | Разница в  массе вазелино-  вого масла до и  после экспери-  мента, m4 | Средняя убыль вазели-  нового масла,  m5 |
| 1 | 25 | 30,8063 | 31,2009 | 0,3946 | 0,0146 | 0,0145 |
| 2 | 30,9602 | 31,3534 | 0,3932 | 0,0161 |
| 3 | 30,4708 | 30,8673 | 0,3965 | 0,0127 |
| 4 | 4 | 30,7515 | 31,1502 | 0,3987 | 0,0105 | 0,0102 |
| 5 | 29,6485 | 30,0474 | 0,3989 | 0,0103 |
| 6 | 31,9313 | 32,3306 | 0,3993 | 0,0099 |
|  |  |  |  |  |  |  |

1. На седьмой день эксперимента:

Таблица 3. Результаты эксперимента на 7 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер ста-кана | Тем-пера-  тура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелино-вого масла, m2 | Масса вазелино-  вого масла после проведения экспери-  мента,  m3 | Разница в  массе вазелино-  вого масла до и  после экспери-  мента, m4 | Средняя убыль вазели-  нового масла,  m5 |
| 7 | 25 | 36,2317 | 36,6006 | 0,3689 | 0,0403 | 0,0404 |
| 8 | 33,0897 | 33,4609 | 0,3712 | 0,038 |
| 9 | 30,4403 | 30,8067 | 0,3664 | 0,0428 |
| 10 | 4 | 37,6213 | 38,0046 | 0,3833 | 0,0259 | 0,0270 |
| 11 | 31,7231 | 32,1082 | 0,3851 | 0,0241 |
| 12 | 31,3258 | 31,704 | 0,3782 | 0,031 |

1. На четырнадцатый день эксперимента:

Таблица 4. Результаты эксперимента на 14 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер ста-кана | Тем-пера-  тура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелино-вого масла, m2 | Масса вазелино-  вого масла после проведения экспери-  мента,  m3 | Разница в  массе вазелино-  вого масла до и  после экспери-  мента, m4 | Средняя убыль вазели-  нового масла,  m5 |
| 13 | 25 | 46,1713 | 46,4862 | 0,3149 | 0,0943 | 0,0824 |
| 14 | 49,8826 | 50,2253 | 0,3427 | 0,0665 |
| 15 | 46,026 | 46,3487 | 0,3227 | 0,0865 |
| 16 | 4 | 50,7842 | 51,1631 | 0,3789 | 0,0303 | 0,0308 |
| 17 | 50,3128 | 50,6917 | 0,3789 | 0,0303 |
| 18 | 50,0999 | 50,4773 | 0,3774 | 0,0318 |

4.На двадцать первый день эксперимента:

Таблица 5. Результаты эксперимента на 21 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер ста-кана | Тем-пера-  тура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелино-вого масла, m2 | Масса вазелино-  вого масла после проведения экспери-  мента,  m3 | Разница в  массе вазелино-  вого масла до и  после экспери-  мента, m4 | Средняя убыль вазели-  нового масла,  m5 |
| 19 | 25 | 30,8067 | 31,1191 | 0,3124 | 0,0968 | 0,1054 |
| 20 | 36,2315 | 36,534 | 0,3025 | 0,1067 |
| 21 | 30,6912 | 30,9876 | 0,2964 | 0,1128 |
| 22 | 4 | 30,7509 | 31,066 | 0,3151 | 0,0941 | 0,0949 |
| 23 | 33,0897 | 33,4085 | 0,3188 | 0,0904 |
| 24 | 38,5041 | 38,813 | 0,3089 | 0,1003 |

После проведения четырех этапов эксперимента мы выясняли, что количество вазелинового масла в течении времени линейно уменьшалось как при 25°С так и при 4°С.

Данную зависимость отражают следующие графики:

График 1. Зависимость средней убыли масла при 25°С от времени для штамма *Pseudomonas spp.*.

График 2. Зависимость средней убыли масла при 4°С от времени для штамма *Pseudomonas spp.*.

Но при наложении двух графиков друг на друга можно заметить, что при более высокой температуре масса масла оставалась наименьшей.

График 3. Зависимость средней убыли масла при разных температурах от времени для штамма *Pseudomonas spp.*.

Полученные результаты свидетельствуют о зависимости активности бактерий при разной температуре, так как количество «исчезнувшего» вазелинового масла напрямую зависит от жизнедеятельности бактерий-деструкторов нефтепродуктов.

Для подтверждения гипотезы мы повторили эксперимент с другим штаммом бактерий-деструкторов.

При проведении повторного опыта мы использовали бактерии рода Artrobacter spp.

После проведения 2 этапов эксперимента, для бактерий рода Artrobacter spp. были получены следующие результаты:

Масса масла в контрольной колбе составила 0,4085г.

1. На третий день эксперимента:

Таблица 6. Результаты эксперимента на 3 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер стакана | Температура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелинового масла, m2 | Масса вазелинового масла после проведения эксперимента, m3 | Разница в массе вазелинового масла до и после эксперимента, m4 | Средняя убыль вазелинового масла,m4 |
| 1 | 25 | 37,6214 | 38,005 | 0,3836 | 0,0249 | 0,0197 |
| 2 | 29,6473 | 30,0357 | 0,3884 | 0,0201 |
| 3 | 30,4397 | 30,8342 | 0,3945 | 0,014 |
| 4 | 4 | 29,2711 | 29,6672 | 0,3961 | 0,0124 | 0,0118 |
| 5 | 30,471 | 30,8672 | 0,3962 | 0,0123 |
| 6 | 31,3253 | 31,7231 | 0,3978 | 0,0107 |

1. На седьмой день эксперимента:

Таблица 7. Результаты эксперимента на 7 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер стакана | Температура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелинового масла, m2 | Масса вазелинового масла после проведения эксперимента, m3 | Разница в массе вазелинового масла до и после эксперимента, m4 | Средняя убыль вазелинового масла,m4 |
| 7 | 25 | 30,691 | 31,0495 | 0,3585 | 0,05 | 0,0490 |
| 8 | 30,7733 | 31,1347 | 0,3614 | 0,0471 |
| 9 | 36,2322 | 36,5909 | 0,3587 | 0,0498 |
| 10 | 4 | 30,8094 | 31,1727 | 0,3633 | 0,0452 | 0,0469 |
| 11 | 385057 | 38,8668 | 0,3611 | 0,0474 |
| 12 | 33,1085 | 33,4688 | 0,3603 | 0,0482 |

1. На четырнадцатый день эксперимента:

Таблица 8. Результаты эксперимента на 14 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер стакана | Температура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелинового масла, m2 | Масса вазелинового масла после проведения эксперимента, m3 | Разница в массе вазелинового масла до и после эксперимента, m4 | Средняя убыль вазелинового масла,m4 |
| 13 | 25 | 30,4397 | 30,7548 | 0,3151 | 0,0934 | 0,0849 |
| 14 | 30,4403 | 30,7724 | 0,3321 | 0,0764 |
| 15 | 30,4703 | 30,7939 | 0,3236 | 0,0849 |
| 16 | 4 | 31,3269 | 31,6788 | 0,3519 | 0,0566 | 0,0565 |
| 17 | 29,2707 | 29,6236 | 0,3529 | 0,0556 |
| 18 | 31,2221 | 31,5732 | 0,3511 | 0,0574 |

1. На двадцать первый день эксперимента:

Таблица 9. Результаты эксперимента на 21 день.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер стакана | Температура, °С | Масса пустого стакана, m1 | Масса стакана с остатками вазелинового масла, m2 | Масса вазелинового масла после проведения эксперимента, m3 | Разница в массе вазелинового масла до и после эксперимента, m4 | Средняя убыль вазелинового масла,m4 |
| 19 | 25 | 30,7506 | 31,0657 | 0,3151 | 0,0934 | 0,0975 |
| 20 | 38,5023 | 38,8112 | 0,3089 | 0,0996 |
| 21 | 30,6902 | 30,9993 | 0,3091 | 0,0994 |
| 22 | 4 | 30,8066 | 31,1248 | 0,3182 | 0,0903 | 0,0898 |
| 23 | 33,091 | 33,4099 | 0,3189 | 0,0896 |
| 24 | 36,2309 | 36,5498 | 0,3189 | 0,0896 |

При повторном опыте результаты оказались схожими с первым оптом. Количество масла также уменьшалось в течении времени и этот процесс шел активнее при более высокой температуре.

График 4. Зависимость средней убыли масла при 25°С от времени для штамма Artrobacter spp.

График 5. Зависимость средней убыли масла при 4°С от времени для штамма Artrobacter spp.

График 6. Зависимость средней убыли масла при разной температуре от времени для штамма Artrobacter spp.

Вывод: проведя работу, мы выясняли, что использование бактерий-деструкторов нефтепродуктов в качестве биоочистителя водных и почвенных ресурсов является эффективным, так как за время проведения эксперимента бактерии в среднем переработали 30% вазелинового масла.

Диаграмма 1. Средняя убыль вазелинового масла за 21день при 25°С

Диаграмма 2. Средняя убыль вазелинового масла за 21день при 4°С

# Заключение.

Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами является реальной мировой проблемой. Из-за аварий на нефтедобывающих установках, при доставке нефти происходит не только утрата нефтепродуктов, но и наносится значительный вред близлежащим природным объектам: почвам, водоемам, атмосферному воздуху. Скопление нефтепродуктов может приводить к образованию горючих смесей с воздухом и, как следствие, к пожарам, задымлениям, нанесению ущерба фауне и человеку, истреблению природных богатств.

Изучение механизма биоразложения имеет большое экологическое значение, поскольку микроорганизмы-деструкторы могут трансформировать или минерализовать органические загрязнители. Процесс микробной деградации способствует ликвидации разлитой нефти из окружающей среды после удаления основной части разлитой нефти различными физическими и химическими методами. Это возможно, так как микроорганизмы имеют ферментные системы для разложения и использования различных углеводородов в качестве источника углерода и энергии.

Изучение процессов биодеградации нефтепродуктовимеет большой потенциал, так как в современном мире количество добываемой нефти только растет, а это означает что случаи разлива нефти при ее транспортировке по воде, железным дорогам, при авариях и пожарах на производстве и нефтепроводах могут участиться. В результате пострадает окружающая среда, загрязнятся почвы и водоемы, а при попадании нефтепродуктов в питьевую воду появится угроза для людей.

В данной работе мы дали определение нефти, раскрыли ее характеристики и химический состав, Выявили основные способы попадания нефти и продуктов ее переработки в почву и воду.

Были получены следующие результаты:

1. Были проведены экспериментальные исследования по влиянию изменения температуры на скорость протекания процессов биодеградации нефтепродуктов.

2. Получены экспериментальные зависимости скорости процессов биодеградации нефтепродуктов от температуры, при использовании различных штаммов нефтеокисляющих бактерий.

3. Для используемых штаммов нефтеокисляющих бактерий были построены графики зависимостей скорости биодеградации от температуры.

При проведении эксперимента были рассмотрены различные варианты очистки почв от загрязнений, проанализированы эффективность различных способов биоочистки, а также рассмотрены возможности биоочистки в различных условиях.

При проведении исследовательской работы были сделаны следующие выводы:

1. Была доказана эффективность использования бактерий-деструкторов нефтепродуктов в качестве одного из способов очистки окружающей среды от нефти и нефтепродуктов.
2. Бактерии ведут себя активнее при более высокой температуре., процесс деградации нефтепродуктов протекает быстрее.
3. Средняя убыль вазелинового масла для двух штаммов нефтеокисляющих бактерий составила 30% от исходной массы.

Таким образом, на основе проведенной работы можно сделать вывод, что микробное разложение можно рассматривать как ключевой компонент стратегии очистки окружающей среды от нефтяных углеводородов.

# Список литературы.

1. Колесниченко А. В. Марченко А. И., Побежимова Т. П., Зыкова В. В. Процессы биодеградации в нефтезагрязненных почвах. Москва, Промэкобезопасность, 2004. 194 с.

2. Холлигер К., Гаспар С., Глод Г., Хейман К., Шумахер В., Шварценбах Р. П., Васкес Ф., «Загрязненная среда в недрах и биоремедиация: органические загрязнители», Обзоры микробиологии FEMS, том. 20, нет. 3–4, стр. 517–523, 1997.

3. Глинка Н.Л. Общая химия. – Л.: Химия, 1978. – 720 с.

4. Несмеянов А.Н., Несмеянов Н.А. Начала органической химии. - М.: Химия, 1974. - 624 с.

5. Терней А.Л. Современная органическая химия М.: 1981 - Том 2 - 652с.

6. В. Ульричи, «Загрязненные участки почвы, разные страны и мониторинг загрязняющих веществ», в Экологическом процессе II. Биотехнология обеззараживания почвы, HJ Rehm and G. Reed, Eds., vol. 11, стр. 5–42, 2000.

7. Груша Я.О., Федоров А.А., Prause J.U., Эксаренко О.В., Шептулин В.А. Экспериментальное исследование процессов разложения органических остатков 2020. Т. 136. № 2. С. 13-19.

8. Коронелли Т. В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 1996. Т. 32. №6. C. 579-585.

9. Гольдберг В. М., Зверев В. П., Арбузов А. И. Техногенное загрязнение природных вод углеводородами и его экологические последствия. Москва, Наука, 2001. 125 с.

10. К.А. Квенволден и К.К. Купер, «Естественная утечка сырой нефти в морскую среду», Geo-Marine Letters , vol. 23, нет. 3–4, стр. 140–146, 2003 г.

11. Вельков В. В. Биоремедиация: принципы, проблемы, подходы // Биотехнология. 1995. №3. C. 20-27.