

1. Управление качеством продукции. Основные понятия. Термины и определения: ГОСТ 15467-79.-введен 1979-07-01. –М: Издательство стандартов, 2001-22с.
2. Государственный стандарт Республики Казахстан. СТ РК ИСО/МЭК 17025-2007. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.
3. Онищенко Г.Г. Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III-IV групп патогенности-Методические указания. – М, 2004.

Ш.А. Әлпейісов

ШИКІЗАТ САПАСЫН БАСҚАРУ – АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ ӨНІМДЕРІНІҢ ҚАУІПСІЗДІК НЕГІЗІ

Түйін

Мақалада Бүкіләлемдік сауда ұйымының нормативтік талаптарына сәйкес ауыл шаруашылығы өнімдері сапасын мемлекеттік бақылау мақсатында зерттеу орталықтарымен сынақ жүргізетін зертханаларды құру мүмкіндігі қарастырылған.

Кілт сөздер: ауыл шаруашылығы, қоршаған ортаны қорғау, ауылшаруашылығы шикізаты, азық-түлік өнімі, сынақ жүргізетін зертханалар.

Sh.A. Alpeisov

QUALITY CONTROL OF RAW MATERIALS-BASE OF AGRICULTURAL PRODUCTS' SAFETY

Summary

Solving the problem of the state monitoring of the quality of agricultural products is necessary to create research centers and testing laboratories in accordance with the regulatory requirements of the World Trade Organization.

Key words: agriculture, environmental protection, agricultural raw materials, food products, test laboratories.

УДК 550.72:579.9.12.7

Г.С. Апендина¹, А.П. Науанова¹, А.Б. Абжалелов²

¹Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, г. Астана

²Казахский университет технологии и бизнеса, г. Астана

ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Аннотация

Одной из причин высокой устойчивости нефти в окружающей среде является их ограниченная растворимость в водных средах, поэтому такие соединения малодоступны для микроорганизмов и с трудом подвергаются биодegradации.

При изучении оптимальной параметры культивирования активных углеводородоокисляющих микроорганизмов. Выявлено, что нефтеокисляющие микроорганизмы показали хороший рост при диапазоне рН среды 7.0–9.0, так же определяли оптимальный рост углеводородоокисляющих микроорганизмов, установлено оптимальной температуре +30°C. Все исследуемые активные углеводородоокисляющие микроорганизмы обладают высокой эмульгирующей активностью и устойчивы высоким концентрациям поваренной соли.

Ключевые слова: нефтезагрязненная почва, углеводородоокисляющие микроорганизмы, эмульгирующей активностью, культивирование, параметры, биопав.

Введения

В Казахстане продолжается интенсивное освоение ресурсов углеводородного сырья. Наряду с добычей и транспортировкой нефти и газа отмечается тенденция усовершенствования и дальнейшего развития нефтехимической промышленности. Центром развития нефтяной и нефтехимической отрасли стал Западный Казахстан. Масштабные разработки и добыча углеводородного сырья ведутся в Актюбинской, Атырауской, Западно-Казахстанской, Мангыстауской и Кызылординской [1].

На современном уровне развития нефтегазового комплекса не представляется возможным полностью исключить его негативное воздействие на окружающую среду. Проблема очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения приобретает все большую остроту в связи с ограниченностью возможностей, а иногда и экологического вреда применения для этих целей механических и физико-химических способов очистки. Наиболее перспективными в настоящее время являются методы биологической очистки экосистем при помощи микроорганизмов, использующих органические загрязнители в качестве источника углерода, при этом токсичные нефтепродукты трансформируются до углекислого газа и воды [2, 3, 4].

Для предприятий нефтеперерабатывающей и нефтехимической промышленности вопросы охраны окружающей среды становятся все более актуальными. Возросшая экологическая опасность данных предприятий связана с выбросами в окружающую среду вредных веществ, появлением новых, зачастую трудноразлагаемых отходов и несовершенными природоохранными мероприятиями [5].

В связи с разнообразием почвенно-климатических условий, физико-химических свойств нефти и нефтепродуктов, уровня и срока действия загрязнения и стоимости мероприятий по рекультивации проблема поиска оптимальных и адаптированных к конкретным условиям методов остаётся весьма актуальной. Так, на территории Западного-Казахстана и других стран существует немало почв, в том числе и нефтезагрязнённых, с повышенной кислотностью и высокой засоленностью почва которая обусловлена естественными или антропогенными факторами. Климат Западного - Казахстана относится к резко континентальным, с жарким сухим летом и холодной малоснежной зимой, со значительными амплитудами сезонных и суточных температур. Для него характерна большая сухость воздуха. Осадков выпадает менее 200 мм в год. Прimitивные приморские почвы не имеют развитого гумусового горизонта. Эти почвы не пригодны для сельскохозяйственного освоения, могут быть лишь использованы для выпаса сельскохозяйственных животных. Почвенный покров представлен в основном бурными, солонцеватыми и песчаными типами почв, для которых даже слабое загрязнение углеводородами приводит к нарушению равновесия в почвенной экосистеме [6].

В этой связи особую актуальность приобретают исследования направленные на выделение и отбор наиболее активных углеводородокисляющих микроорганизмов, способных трансформировать и утилизировать нефтяные углеводороды. Имеется ряд российских и зарубежных препаратов, разработанных на основе микроорганизмов, предназначенных для ремедиации нефтезагрязненных территорий. Несмотря на это поиск местных аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов на территории Казахстана, где происходит основная добыча нефти актуален, это связано, в первую очередь, с высокой степенью аридности климата и особенностями пустынных почв.

Целью исследование – изучить оптимальные параметры культивирования углеводородокисляющих микроорганизмов.

Материалы и методы

С целью проведения научно-исследовательских работ использовали следующие материалы:

Микроорганизмы: Выделенные углеводородокисляющие микроорганизмы из нефтезагрязненных почв Западного Казахстана.

Питательные среды: сухой питательный бульон и агар (СПБ, СПА).

Определение оптимального диапазона кислотности и солености среды для исследуемых культур микроорганизмов проводили на среде СПБ (рН от 3 до 9, NaCl от 3% до 10%). Уровень рН среды устанавливали путем добавлением HCl или 3 % KOH.

Для определения оптимальной температуры культивирования, микроорганизмы выращивали при температурах от 20 до 40 °С. Наличие роста отмечали визуально по 4-бальной шкале.

Определение эмульгирующей активности. Эмульгирующую активность определяли визуально согласно методике [7] по четырёхбалльной шкале и по изменению оптической плотности супернатанта, полученного после центрифугирования культуры, выращенной на среде с вазелиновым маслом, согласно методике в нашей модификации. Пробу культуры объёмом 1 мл, выращенной на среде В-Д с вазелиновым маслом в течение 48 ч., центрифугировали в течение 3 мин при 10000 g на микроцентрифуге «Eppendorf 5415» (Германия, 2005). Супернатант (1 мл) переносили в пробирки, добавляли 1 мл среды В-Д и 0,5 мл вазелинового масла. Содержимое пробирки перемешивали на миксере в течение 2 мин. В качестве контроля использовали 0,5 мл вазелинового масла в 2 мл среды В-Д. Оценка поверхностной активности проводилась по оптической плотности исследуемых образцов на КФК-2 при длине волны 540 нм [8].

Результаты и обсуждение

Одним из основных факторов влияющих на скорость биodeградации нефти, является температура и рН среды. Температура влияет на нарушение нефти, воздействуя на физическую природу и химический состав нефти, на скорость метаболизма углеводов микроорганизмами и состав микробного сообщества [9]. При низких температурах возрастает вязкость нефти, снижается испарение токсичных соединений, уменьшаются темпы биodeградации. Считается, что для развития нефтеокисляющих бактерий и интенсификации процесса очистки воды и почвы от нефти оптимальными являются мезофильные условия +20-30°C. При температуре +6-15°C интенсивность трансформации нефти снижается в 2,5-4 раза, при +40°C рост бактерий ограничивается и процесс замедляется [10].

У отобранных культур микроорганизмов изучали способность их роста в присутствии различных концентраций хлорида натрия, кислотности среды и температуры, в качестве единственного источника углерода и энергии использовали нафталин.

Результаты по визуальной рост культур микроорганизмов при разных значениях рН приведены в таблице 1.

Для оценки роста нефтеокисляющих микроорганизмов в зависимости от различных диапазонов рН среды, использовали питательную среду СПБ с добавлением дизельного топлива.

Таблица №1. Визуальная роста культуры микроорганизмов при разных значениях.

| № | Штамм | Диапазоны рН среды | | | |
|---|-------|--------------------|---|---|---|
| | | 3 | 5 | 7 | 9 |
| 1 | 10/2 | - | + | + | + |
| 2 | 14/2 | - | + | + | + |
| 3 | T2 | - | - | + | + |
| 4 | U2.4 | - | - | + | + |
| 5 | U2.6 | - | - | + | + |
| 6 | Дн | - | + | + | + |
| 7 | ЖН2 | - | + | + | + |
| 8 | ЖН6 | - | + | + | + |
| 9 | KR5 | | + | + | + |

Примечание: «+» - присутствует рост, «-» нет роста

Из табличных данных видно, что культуры микроорганизмов при разных значениях рН показало, что наиболее благоприятной средой для репродукции микроорганизмов является диапазон значения рН среды от 5 до 9,0, кроме культур T2, U2.4 U2.6 при значении рН показал отсутствия роста.

Сильнокислая среда (рН 3) не благоприятна для роста углеводородокисляющих микроорганизмов. Одной из причин высокой устойчивости нефти в окружающей среде является их ограниченная растворимость в водных средах, поэтому такие соединения малодоступны для микроорганизмов и с трудом подвергаются биодegradации.

Для определения оптимального роста микроорганизмов необходима соответствующая его видовым потребностям температура. С этой целью нами изучен рост отобранных микроорганизмов при разных температурных режимах. Результаты опыта представлены в таблице 2.

Таблица 2. Визуальная роста микроорганизмов при разном температурном режиме

| № | Штамм | Температура культивирования, °С | | | | |
|---|-------|---------------------------------|-----|-----|-----|----|
| | | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 |
| 1 | 10/2 | ++ | ++ | +++ | +++ | ++ |
| 2 | 14/2 | + | ++ | +++ | +++ | + |
| 3 | T2 | + | ++ | +++ | ++ | - |
| 4 | U2.4 | ++ | +++ | +++ | ++ | + |
| 5 | U2.6 | ++ | ++ | +++ | +++ | ++ |
| 6 | Дн | + | ++ | +++ | +++ | + |
| 7 | ЖН2 | + | ++ | +++ | ++ | - |
| 8 | ЖН6 | ++ | +++ | +++ | ++ | + |
| 9 | KR5 | ++ | ++ | +++ | +++ | ++ |

Примечание - «-» нет роста; «+» слабый рост; «+++» средний рост; «++++»

| |
|--------------|
| хороший рост |
|--------------|

Изучение влияния температуры на накопление культур микроорганизмов показало, что, при температурах от 20 до 35°C все изоляты дали интенсивный рост микроорганизмов. Тогда как, при 40°C только у изолятов Т2 и ЖН2 наблюдали отсутствие роста. Следовательно, можно отнести всех выделенных культур мезофильным видам бактерий.

На эффективность биоочистки нефтезагрязненной почвы в значительной степени влияет уровень содержания в почве минеральных солей и степень загрязнения нефтью. По данным литературы [11], почва Западной – Казахстанской области сильнозасоленная – более 4%. Высокое содержание солей подавляет жизнедеятельность многих микроорганизмов.

В следующей серии опытов была проведена визуальная оценка роста выделенных культур при различных концентрациях поваренной соли от 3% до 9%. Все исследованные культуры микроорганизмов хорошо росли на среде СПА, содержащей 3% и 5% поваренной соли. На среде с содержанием высокой концентрации поваренной соли (7 %, 9 %) все изоляты, кроме 14/2 культуры показали плохой рост (таблица 2). Результаты проведенных исследований представлено в таблице 3.

Таблица 3. Визуальное рост нефтеокисляющих микроорганизмов на среде с различным концентрациям поваренной соли

| № | Штаммы | Концентрации поваренной соли, в % | | | |
|---|--------|-----------------------------------|-----|-----|-----|
| | | 3 | 5 | 7 | 9 |
| 1 | 10/2 | +++ | +++ | ++ | + |
| 2 | 14/2 | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 3 | Т2 | +++ | +++ | +++ | + |
| 4 | U 2.4 | +++ | +++ | +++ | ++ |
| 5 | U 2.6 | +++ | +++ | +++ | ++ |
| 6 | Дн | +++ | +++ | +++ | ++ |
| 7 | ЖН2 | +++ | +++ | ++ | ++ |
| 8 | ЖН6 | +++ | +++ | ++ | ++ |
| 9 | KR5 | +++ | +++ | +++ | ++ |

Примечание: «+++» - хороший рост, «++» - средний рост, «+» - слабый рост

Помимо высокого засоления почвы на эффективность биоутилизации нефти УОМ оказывает влияние и способность УОМ продуцировать биоПАВ (биосурфактанты, биоэмульсины). Известно, что многие виды микроорганизмов способны продуцировать поверхностно-активные вещества, которые превращают углеводороды нефти в эмульсию, что способствует лучшему усвоению их микроорганизмами [12]. Микроорганизмы, продуцирующие биосурфактанты, проявляют высокую поверхностную активность при росте на гидрофобных субстратах, таких как гексадекан, вазелиновое масло и т.д., поэтому для изучения эмульгирующей активности нами использовано вазелиновое масло.

Эмульгирующую активность выделенных изолятов определяли визуально по четырёхбалльной шкале и по изменению оптической плотности супернатанта при длине волны 540 нм, полученного после центрифугирования культуры микроорганизмов, выращенной на среде с вазелиновым маслом. Результаты эмульгирующей активности углеводородокисляющих микроорганизмов представлены в таблице 4.

Таблица 4. Эмульгирующая активность микроорганизмов-деструкторов нефти

| № | Штамм | Визуально, Баллы | Оптическая плотность, ед. | Эмульгирующая активность, % |
|----|----------|---------------------|------------------------------|--------------------------------|
| 1 | Контроль | Без изменений | 0,05±0,003 | 0 |
| 2 | 10/2 | 4 | 0,61±0,027 | 6,6 |
| 3 | 14/2 | 4 | 0,59±0,006 | 7,3 |
| 4 | T2 | 4 | 0,67±0,012 | 11 |
| 5 | U2.4 | 3 | 0,74±0,007 | 39 |
| 6 | U2.6 | 4 | 0,4±0,027 | 60 |
| 7 | Дн | 4 | 0,95±0,016 | 23,3 |
| 8 | ЖН2 | 4 | 0,55±0,012 | 9,3 |
| 9 | ЖН6 | 3 | 0,68±0,007 | 9,1 |
| 10 | KR5 | 4 | 0,12±0,027 | 10,5 |

Изучение способности бактерий к синтезу естественных поверхностно-активных веществ (ПАВ, биосурфактантов, биоэмульгаторов), которые снижают поверхностное натяжение и способствуют повышению степени биodeградации, показало, что индекс эмульгирования с использованием вазелинового масла у всех используемых штаммов различен. При визуальной оценке обладали хорошей поверхностной активностью, по оптической плотности показало высокую оптическую плотность супернатанта – больше 0,1 ед., индекс эмульгирования, использованных культур варировало в пределах 6,6%-60%. На основании полученных результатов изучаемые микроорганизмы продуцировали в определенной степени биоПАВ относящиеся к экзо-типу (биосурфактанты экскретируются в культуральную жидкость).

Вывод

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что углеводородокисляющие микроорганизмы показали хороший рост при: диапазоне pH среды 7,0-9,0, оптимальной температуре +30°C и устойчивы при концентрации поваренной соли от 5 до 9%. Все исследуемые изоляты эмульгировали вазелиновое масло, т.е. продуцировали биоПАВ.

Литература

1. Булатов А.И., Макаренко П.П., Шеметов В.Ю. Охрана окружающей среды в нефтегазовой промышленности. - М.: Недра, 1997. - 470 с.
2. Стабникова Е.В., Селезнева М.В., Рева О.Н., Иванов В.Н. Выбор активного микроорганизма-деструктора углеводов для очистки нефтезагрязненных почв // Прикладная биохимия и микробиология. - 1995. - № 5. - С. 534-539.
3. Коронелли Т.В., Комарова Т.И., Ильинский В.В. Интродукция бактерий рода *Rhodococcus* в тундровую почву, загрязненную нефтью // Прикладная биохимия и микробиология. - 1997. - № 2. - С. 198-201.
4. Белоусова Н.И., Шкидченко А.Н. Деструкция нефтепродуктов различной степени конденсации микроорганизмами при пониженных температурах // Прикладная биохимия и микробиология. - 2004. - № 3. - С. 312-316.
5. Кобзев Е.Н., Петрикевич С.Б., Шкидченко А.Н. Исследование устойчивости ассоциации микроорганизмов - нефтедеструкторов в открытой системе // Прикладная биохимия и микробиология. - 2001. - Т. 37. - № 4. - С. 413-417.
6. Надилов Н.К. Нефть и газ Казахстана. - Алматы: Галым, 1995. - Ч. 2 - С. 5-26.
7. Диаров М.Д. Экология и нефтегазовый комплекс. - Алматы: Галым, 2003. - Т. 2. - 832 с.

8. Лурье Ю.Ю., Рыбникова А.И. Химический анализ производственных сточных вод. – М.: Химия, 1974. - 290 с.
9. Francu D.S., Thomas J.M., Raymond R.L., Ward C.H. Emulsification of hydrocarbons by subsurface bacteria // J. of Industrial microbiology. – 1991. – Vol. 8. – P. 237-246.
10. Cirigliano M.C., Carman G.M. Isolation of bioemulsifier from *Candida lipolitica* // Appl. And Environ. Microbiol. – 1984. – P. 747-750.
11. Desai J.D., Banat I.M. Microbial production of surfactants and their commercial potencial // Microbiol. Molecular Biol. Rev. - 1997. - Vol. 61. - P. 47-64.
12. Burd G., Ward O.P. Bacterial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons on agar plates: the role of biocurfactants // Biotechnol. Tech. – 1996. - Vol. 10, № 5. - P. 371-374.

Г.С. Эпендина¹, А.П. Науанова¹, А.Б. Абжалелов²

¹С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Астана қаласы

²Қазақ технология және бизнес университеті, Астана қаласы

КӨМІРСУТЕК ТОТЫҚТЫРҒЫШ МИКРОҒЗАЛАРДЫ ӨСІРУ МЕН БЕЙІМДЕЛІК ПАРАМЕТРЛЕРІН ЗЕРТТЕУ

Қоршаған ортада мұнайдың тұрақтылығы, негіз болуы, суда шектеулі ерігіштігі, сол себептен құралымдардың микроағзалар биодеградациясы төмен болып табылады.

Белсенді көмірсутек тотықтырғыш микроағзаларды өсіру мен бейімділік параметрлері зерттелінген. рН 7.0-9.0 диапазонның қоректік ортада, мұнай тотықтырғыш микроағзалардың белсенді өсуі, температура диапазоны +30°C штаммдарға тиімді зерттелінген.

Зерттелінген көмірсутек тотықтырғыш микроағзалар белсенді эмульция жасайды және олар экзо-тип, NaCl-дың жоғарғы концентрациясына төзімді.

G.S. Apendina¹, A.P. Nauanova¹, A.B. Abzhalelov²

¹Kazakh Agro Technical University. S.Seifullin, Astana

²Kazakh University of Technology and Business

STUDY OF CULTIVATION PARAMETERS HYDROCARBONOXIDIZING MICROORGANISMS

Summary

One reason for the high stability of oil in the environment is their limited solubility in aqueous media, so these compounds are inaccessible for microorganisms and hardly biodegradable.

In the study of the optimum parameters of the cultivation of active hydrocarbon-oxidizing microorganisms.

Revealed that the oxidizing microorganisms showed good growth in the range of pH 7.0 - 9.0, also determines the optimal growth of hydrocarbon-oxidizing microorganisms that the optimal temperature of 30 ° C.

All study active hydrocarbon-oxidizing microorganisms have high emulsifying activity and stability of high concentrations of salt.

ӘОЖ: 579:576.6

**К.Б. Бияшев, Ж.С. Киркимбаева, А.Ж. Мақбуз, Б.К.Бияшев,
С.Е.Ермағамбетова, А.А. Жақыпова, Д.А. Сарыбаева, А.Е. Жолдасбекова**

Қазақ ұлттық агралық университеті

АТТЕНУИРЛЕНГЕН E.COLI 64Г ШТАМЫНЫҢ ҚАУІПСІЗДІГІН ЗЕРТХАНАЛЫҚ МОДЕЛЬДЕ БАҒАЛАУ

Аттенуирленген E.coli 64Г штамының қауіпсіздігі зертханалық модельдерде бағаланды. Зерттелген ақ тышқандардың құрсақ қуысына және қоректік жолмен енгізілген E.coli 64Г штамының бір тәуліктік тірі өсінділері (сорпалық және агарлық өсінділері) және тәжірибелік мөлшерінде өлтірілген өсінділер өлімге ұшыратпағаны анықталды.

Кілт сөздер: E.coli штамы, пробиотикалық препараттар, зардаптылық, пробионттар, антагонистік белсенділік.

Ключевые слова: штамм E.coli, пробиотические препараты, патогенность, пробионты, антагонистическая активность.

Key words: strain E.coli, probiotic preparations, pathogenicity, probionts, antagonistic properties.

Кіріспе Көптеген ауруларды алдын алу және емдеу әдістерінің бірі зат алмасу көрсеткіштерін және асқазан–ішек жолдары негізінде микроорганизмдер – симбионттардан дайындалған пробиотиктердің көмегімен микрофлораны жақсарту болып есептеледі. Пробиотиктер ішек биоценозын бірқалыпты деңгейде ұстап қана қоймай төлдердің асқазан–ішек жолдары ауруларын алдын алады, сонымен қатар көптеген жүйелерге әсер етеді, ішек төзімділігінің жоғары колонизациясымен байланысты [1].

Негізінде пробиотиктік препараттардың толығымен зерттелмегендігі және құрамына кіретін бактерия штамдарының дұрыс сұрыпталмағандығы себептерінен бірқатар зерттеулерде теріс нәтижелер алынған. Өндірушілер пробиотикалық штамдарды сұрыптаудағы кейбір негізгі критерилерді орындамау барысында пробиотикалық препараттардың тиімділігінің төмендігі байқалып отыр. Қазіргі уақытта көптеген ғылыми еңбектерде ветеринарлық пробиотиктерді дайындауда штамдар жануарлар асқазан–ішек жолдарынан бөліп алынуы туралы мәліметтер көрсетілген [2].

Жалпы методологиялық әдістермен пробиотиктердің тиімділігі бағаланады, яғни түрлі зертханалық жануарларға сынама жүргізіледі және тәжірибелік, бақылау топтарындағы вариацияны дәлелдейтін биологиялық статистикалық нәтижелер жинақталады. Пробиотиктер антибиотикті немесе химиятерапиясынан кейін ішек жолдарындағы микробтық көріністі қалпына келтіруге және жануарлардың табиғи төзімділігін жоғарылату үшін жиі қолданылады. Пробиотиктер – ішек бактериоценозына оң әсер ететін микроорганизмдердің тірі, белсенді антагонистік өсінділері. Біздің елімізде ондаған пробиотиктер түрлері тіркелген, негізінде бір-үш түрлі сүт қышқыл бактерияларынан