

АНДАТПА

8D05105 – «Биотехнология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Шаймерденова Ұлжан Тұрғанбекқызы

«Батыс Қазақстан кен орындарындағы аборигендік микроорганизмдер негізінде пласттардан мұнайдың шығуын арттыру»

Зерттеу жұмысының жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс Батыс Қазақстан кен орындарының пласт сулары сынамаларындағы микробтық алуантүрлілікті зерттеуге және олардан бөлініп алынған биосурфактант пен биополимер өндіруші микроорганизмдерді іріктеуге арналған. Микроорганизм штамдарының филогенетикалық тиесілігін анықтау мақсатында олардың микробиологиялық (морфологиялық-дақылдық, физиологиялық-биохимиялық) және молекулалық-генетикалық сипаттамалары зерттелді. Биосурфактант және биополимер өндіруші микроорганизмдердің қасиеттерін анықтауға бағытталған химиялық зерттеулер және белсенді штамдардың мұнай шығуын арттыру тиімділігін зерттеу үшін зертханалық бағалаулар жүргізілді.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Мұнай-газ өнеркәсібі Қазақстан экономикасында негізгі орындардың бірін алады. Кен орындарын дәстүрлі әдістермен игеру кезінде және өндірілетін өнімдерде судың жоғары деңгейімен игерілгенде, әртүрлі бағалаулар бойынша мұнай қорының 25%-дан 70%-ға дейін жер қойнауында қалады. Еліміздегі кен орындарының көпшілігі төмен өткізгіштігімен, мұнайдың жоғары тұтқырлығымен және күрделі геологиялық құрылымымен сипатталады, бұл оларды алу қиын қорларға жатқызады.

Осыған байланысты мұнайды қарқынды өндіру аясында кен орындарынан мұнай шығаруды арттыру мәселесі өзекті болды. 1960 жылдардан бастап Қазақстанда мұнай шығаруды арттыру бойынша пилоттық жобалар жүзеге асырылды. Қазіргі уақытта термиялық және термиялық емес мұнай шығаруды арттыру әдістері қолданылады.

Микробиологиялық мұнай шығаруды арттыру (ММША) мұнай өндірудің тартымды балама тәсілі болып табылады. Дегенмен, далалық жағдайда ММША технологиясын практикалық қолдану үшін осы салада жүргізілген іргелі зерттеулер жеткіліксіз. Бұл әдіс шет елдерде сәтті қолданылады, бірақ мұнай құрамы мен ұңғымаларды пайдалану шарттары аймаққа байланысты айтарлықтай өзгереді. Сондықтан Қазақстандағы игерудің кеш сатысындағы мұнай кен орындарында ММША технологиясын қолдану бойынша зерттеулер қажет.

ММША технологиясы микроорганизмдерді және олардың метаболиттерін пайдаланады, олардың ішінде биосурфактанттар мен биополимерлер үлкен қызығушылық тудырады. Биосурфактанттар мұнай мен су арасындағы фазааралық және беттік керілуді төмендету, су-мұнай эмульсияларын қалыптастыру, жерасты жынысының суланғыштығын мұнайдан суға өзгерту сияқты механизмдердің арқасында мұнайдың шығуын арттыруға көмектеседі. Биополимерлер ығыстыратын сұйықтықтың

тұтқырлығын арттырып, айдау бейінін жақсартып, коллектордың жоғары өткізгіштігі бар аймақтарын селективті түрде жауып, төмен өткізгіштігі бар аймақтардан қалдық мұнайды тиімдірек ығыстыруға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, биосурфактанттар мен биополимерлердің синтетикалық беттік белсенді заттарға қарағанда бірқатар артықшылықтары бар: олар аз уытты, биологиялық ыдырайтын, экстремалды жағдайларға (рН, температура, тұздылық) төзімді және неғұрлым үнемді, өйткені оларды жаңартылатын шикізаттан немесе өнеркәсіптік қалдықтардан алуға болады.

Зерттеу мақсаты: Ақінген және Шығыс Мақат кен орындары пласт суларының микробтық алуантүрлілікті сипаттау және мұнай шығуын арттыру үшін белсенді биосурфактант және биополимер өндіруші микроорганизмдерді бөліп алу.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Батыс Қазақстан мұнай кен орындарының пласт суларының физика-химиялық талдауын жүргізу;
2. Батыс Қазақстан кен орындарының пласт суларының микробтық алуантүрлілігін анықтау;
3. Пласт суларынан бөлініп алынған биосурфактант өндіруші микроорганизмдерді іріктеу және идентификациялау;
4. Бөлініп алынған микроорганизм штамдарында биосурфактанттар (*srfAA*, *srfAB*, *srfAC*, *srfAD*, *srfp*, *lchAA*) және биополимер (*sacB*) синтезін кодтайтын гендерді анықтау;
5. Бөлініп алынған микроорганизмдер штамдары түзетін биосурфактанттар мен биополимерлердің құрылымдық сипаттамаларын зерттеу;
6. Батыс Қазақстан мұнай кен орындарынан бөлініп алынған биосурфактант және биополимер өндіруші микроорганизмдер негізінде мұнайды шығару коэффициентін анықтау.

Зерттеу объектілері. Зерттеу объектілері Батыс Қазақстан мұнай кен орындарынан микробтық алуантүрлілікті зерттеу мақсатында алынған пласт су сынамаалары мен сынамалардан бөлініп алынған микроорганизмдердің таза дақылдары қолданылады.

Зерттеу әдістері. Диссертациялық жұмыс барысында тәжірибелер зертханалық жағдайда заманауи *Illumina* MiSeq жүйесінде микробтық алуантүрлілігін талдау, дәстүрлі микробиологиялық және физика-химиялық әдістер, молекулалық-генетикалық (16S рРНҚ генінің фрагментін секвенирлеу, ПТР, qPCR), тензиометр, ИҚ-Фурье спектофометрі әдістерін қолдана отырып жүргізілді.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы.

Алғаш рет Ақінген және Шығыс Мақат кен орындарының пласт суларына кешенді микробтық алуантүрлілігіне сипаттама жүргізілді, нәтижесінде осы екі кен орнының микробтық қауымдастықтарының құрылымдық ерекшеліктері анықталды. Талдау нәтижесінде класс деңгейінде Ақінген кен орнының пласт суларында *Alphaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Clostridia*, *Gammaproteobacteria* және *Bacilli* басым болса, ал Шығыс Мақат кен орны

пласт суларында *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Clostridia* және *Methanomicrobia* басым класс өкілдері анықталды.

Батыс Қазақстан кен орындарынан 33 микроорганизм бөлініп алынып, штамдар арасында алғаш рет биосурфактант өндірісіне сапалық және сандық іріктеу жүргізіліп, іріктелген микроорганизмдер түр деңгейінде анықталды: *Bacillus safensis* A2, *Bacillus subtilis* A8, A9 және A12, *Bacillus paralicheniformis* R4 және *Bacillus licheniformis* PW2. Таңдалған штамм микроорганизмдердің биосурфактанттар мен биополимерлерге жауапты гендердің бар-жоғы анықталып, олардың экспрессиясы зерттелді:

srfAA гені – 4 штамдарда *Bacillus subtilis* (A8, A9, A12), *Bacillus licheniformis* PW2.

srfAB гені – 2 штамдарда *Bacillus subtilis* (A8, A9).

srfAC гені – 3 штамдарда *Bacillus subtilis* (A8, A9, A12).

srfAD гені – 3 штамдарда *Bacillus subtilis* (A8, A9, A12).

srfp гені – 4 штамдарда *Bacillus safensis* A2, *Bacillus subtilis* (A8, A9).

lchAA гені – *Bacillus licheniformis* PW2.

sacB гені – 4 штамдарда *Bacillus subtilis* (A8, A9), *Bacillus licheniformis* PW2.

Алғаш рет таңдалған штамдардың биосурфактант және биополимер өндіру қабілеті анықталды. *B. subtilis* A8 штамындағы биосурфактанттың ең жоғарғы шығымы (1,33 г/л) көміртегі көзі ретінде меласса бар ортада өсіру кезінде алынды. *B. subtilis* A12 биополимерінің ең жоғарғы шығымы (0,42 г/л) қоректік ортада сахароза мен соя ұнын қолданғанда байқалды.

Алғаш рет зерттелетін кен орнының табиғи жынысөзегін, пласт суын, сондай-ақ микроорганизмдер ассоциациясын пайдалана отырып, зертханалық бағалау кезінде мұнай шығару коэффициенті белгіленді: *B. subtilis* A9 штамы үшін $23,2 \pm 2,5\%$ және *B. subtilis* A8: *B. subtilis* A9 ассоциациясы үшін $24,4 \pm 3,1\%$, бұл микроорганизмді бақылаусыз пайдалану мәнінен (4%) айтарлықтай асып түсті.

Жұмыстың ғылыми – практикалық маңыздылығы.

Халықаралық GenBank дерекқорына тіркелген келесі биосурфактант өндіруші штамдар бөлініп алынып, идентификацияланды: *Bacillus safensis* subsp. *safensis* A2 (OP565012), *Bacillus subtilis* A8 (OP565013), *Bacillus subtilis* A9 (OP565014), *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* A12 (OP565015), *Bacillus paralicheniformis* R4 (OP565016) және *Bacillus licheniformis* PW2 (OP565017).

Барлық микроорганизм штамдары «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» ЖШС-да (РМК) келесі тіркеу нөмірлерімен депозиттелді: №B-RKM 1109 *Bacillus safensis* subsp. *safensis* A2, №B-RKM 1110 *Bacillus subtilis* A8, №B-RKM 1111 *Bacillus subtilis* A9, №B-RKM 1112 *Bacillus paralicheniformis* R4, №B-RKM 1113 *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* A12, №B-RKM 1114 *Bacillus licheniformis* PW2 (29.12.2023 ж. күнімен).

Модельдік мұнай шығаруды арттыру тәжірибелері барысында *B. subtilis* A9 штамын қолдану мұнай шығару коэффициентін $23,2 \pm 2,5\%$ деңгейінде көрсететіні, ал *B. subtilis* A8 : *B. subtilis* A9 ассоциациясын қолдану $24,4 \pm 3,1\%$

көрсеткішіне жететіні анықталды. Бұл бақылау үлгілерімен салыстырғанда (мұнай шығару 4%-дан аспады) сәйкесінше 19,2 және 20,4 пайыз жоғары нәтижені көрсетті.

2024 жылғы 2 ақпанда *Bacillus subtilis* A9 штамына қатысты №9060 «Қабаттан мұнай бергіштікті микробиологиялық арттыру үшін қолданылатын биосурфактант өндіруші *Bacillus subtilis* A9 штамы» атты пайдалы модельге ҚР патенті алынды.

Қорғауға шығарылған негізгі қағидалар:

1. Ақінген және Шығыс Мақат кен орындарының пласт суларының микробтық алуантүрлілігі *Alphaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Clostridia*, *Gammaproteobacteria* және *Bacilli*, сондай-ақ *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria* және *Methanomicrobia* өкілдерін қамтыды.

2. Биосурфактант өндіруші штамдар анықталып, GenBank дерекқорына тіркелді: *Bacillus safensis subsp. safensis* A2 (OP565012), *Bacillus subtilis* A8 (OP565013), *Bacillus subtilis* A9 (OP565014), *Bacillus subtilis subsp. subtilis* A12 (OP565015), *Bacillus paralicheniformis* R4 (OP565016), *Bacillus licheniformis* PW2 (OP565017).

3. *B. subtilis* A8 штамының биосурфактант өнімінің ең жоғары шығымы мелассаны көміртек көзі ретінде қолданылған жағдайда 1,33 г/л құрады, ал сүт сарысуын қолданылғанда 0,1 г/л болды.

4. Мұнай шығарудың жоғары коэффициенттері *B. subtilis* A9 штамын ($23,2 \pm 2,5\%$) және *B. subtilis* A8 пен *B. subtilis* A9 ассоциациясын ($24,4 \pm 3,1\%$) қолдану нәтижесінде алынды, бұл көрсеткіштер бақылау үлгісінің (4%) деңгейінен сәйкесінше 19,2 және 20,4 пайыз жоғары болды.

Автордың жеке үлесі

Зерттелетін мәселеге қатысты әдеби деректерге талдау, жұмыстың мақсат міндеттерін анықтау, тәжірибелік зерттеулерді жүргізу, нәтижелерді статистикалық өңдеу және талдау, ғылыми мақалалар мен диссертацияны жазу, қол жазбаны рәсімдеу автордың жеке қатысуымен орындалды.

Жұмыстың мемлекеттік ғылыми зерттеу бағдарламаларымен байланыстылығы

Диссертациялық жұмыс AP19577160 «Биосурфактанттарды өндіретін микроорганизмдерді және олардың мұнайды шығуын жоғарылату үшін қолданылуын зерттеу» №0123PK00131 (2023-2025 жж) жоба аясында орындалды.

Жұмыстың сыннан өтуі:

Диссертациялық жұмыстың нәтижелері төмендегідей халықаралық ғылыми конференциялар баяндалды және талқыланды:

- Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» VI Халықаралық ғылыми конференциясы, 2021 ж., Алматы, Қазақстан;
- Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» VI Халықаралық ғылыми конференциясы, 2022 ж., Алматы, Қазақстан;

- «Цифрландыру дәуіріндегі ғылым мен әлемдік қауымдастықтың дамуының заманауи тенденциялары» XII халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция, 2023 ж., Мәскеу, Ресей

- Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» VI Халықаралық ғылыми конференциясы, 2023 ж., Алматы, Қазақстан;

- «Биология ғылымдарының тұрақты дамуының заманауи тенденциялары» атты Халықаралық форумы, 2024 ж., Алматы, Қазақстан.

- ICASET-2024 International Conference on Advance in Science, Engineering and Technology, 23-24 august 2024, Hanoi, Vietnam

Басылымдар

Диссертацияның негізгі нәтижелері баспадан шыққан 12 ғылыми еңбекте жарияланды, оның ішінде 3 мақала Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған отандық мерзімді журналдарда; 3 мақала *Scopus* және *Web of science* халықаралық деректер базасына кіретін журналдарда: *Scientific Report* (процентілі-92, Q1), *Frontiers in Microbiology* (процентілі-73, Q2); *Journal of Environmental Management and Tourism*; 4 тезис отандық халықаралық конференция материалдарында; 2 мақала шетелдік және отандық халықаралық конференция материалдарында жарияланды.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі

Диссертациялық жұмыс 117 мәтіндік бетте жазылды. Оның құрамына нормативтік сілтемелер, анықтамалар, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 210 пайдаланылған әдебиеттер тізімі кіреді. Диссертация құрамында 26 сурет, 15 кесте, 5 қосымша бар.