

Выпускная квалификационная работа бакалавра

МИКРОБИОТА СМАЗОЧНО- ОХЛАЖДАЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ



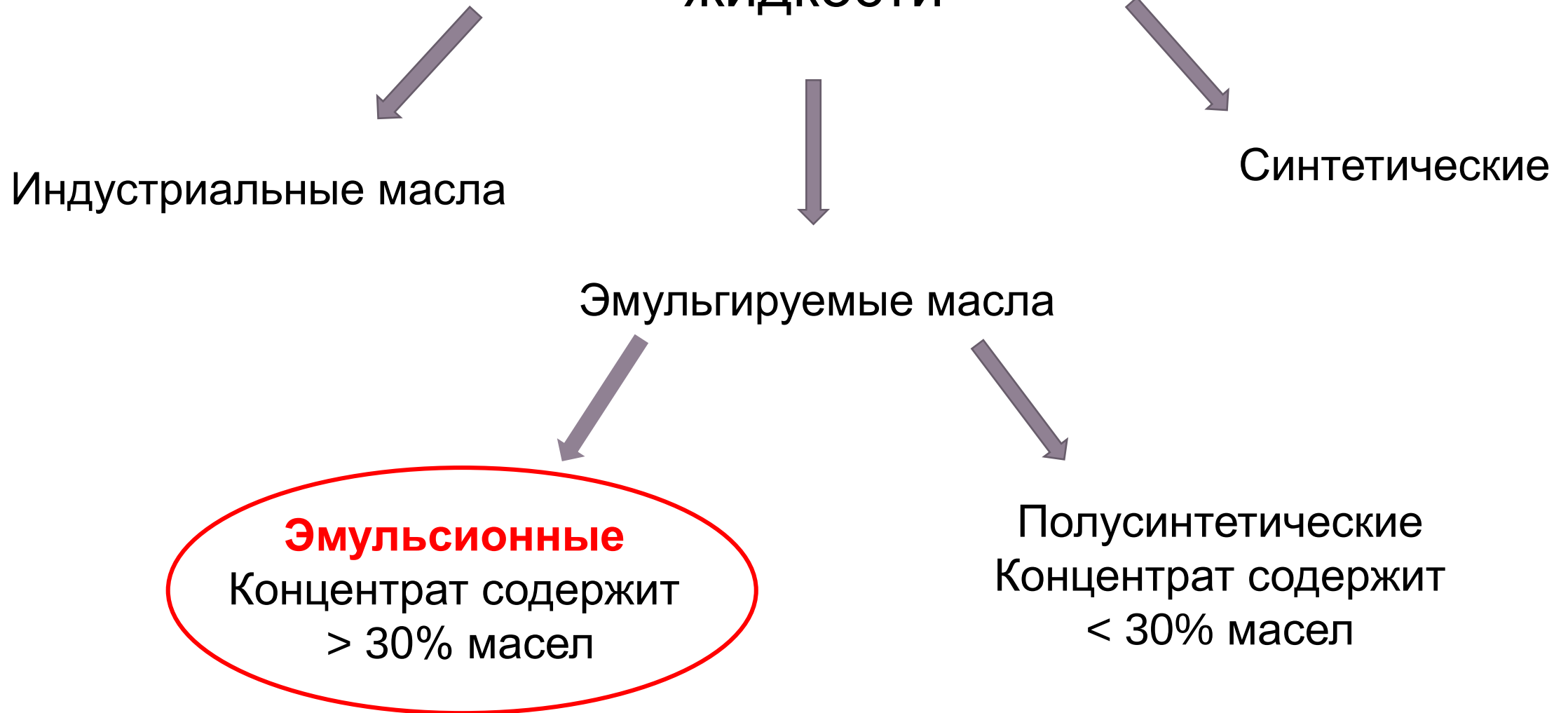
Козырева А.М.

Научные руководители: Еланский С.Н., Кокаева Л.Ю.

Смазочно-охлаждающие жидкости (**СОЖ**):
уменьшение трения и нагревания металла во
время обработки



Смазочно-охлаждающие жидкости



Проблема утилизации СОЖ

1. СОЖ портятся (**микроорганизмы**)

2. Утилизация СОЖ

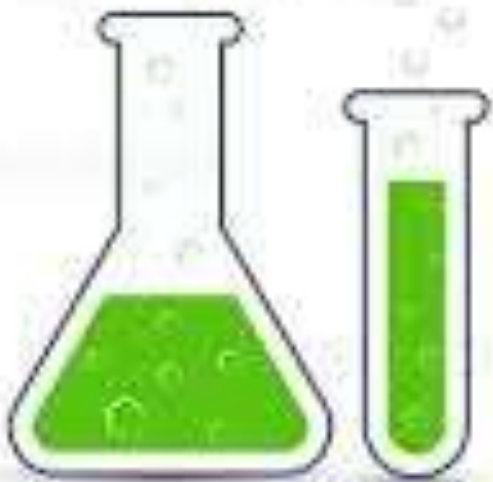
- СОЖ токсичны
- Сложный состав
- Мировой объем использованных СОЖ более 2 млн м³

3. Идея: использовать

микроорганизмы для утилизации



Биологический метод утилизации СОЖ



- Требуется меньше химических реагентов чем традиционные методы
- Требуется меньше энергии
- Экологически безопасен
- Конкурентоспособен по стоимости

Цель исследования

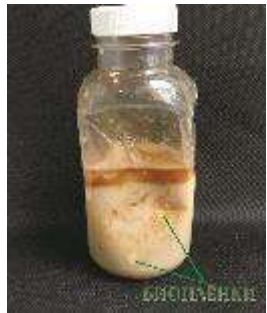
Поиск наиболее эффективных
микроорганизмов-деструкторов СОЖ

Задачи

1. Выделить из отработанной СОЖ бактерии и грибы и определить их видовую принадлежность
2. Оценить степень развития микроорганизмов в СОЖ
3. Определить наиболее эффективных деструкторов СОЖ

Задача 1. Выделить и идентифицировать микроорганизмы

Морфологическая диагностика Молекулярная диагностика



Образец
отработанной
СОЖ
Завод "КАМАЗ"
Обработка стали



Посев на питательную среду



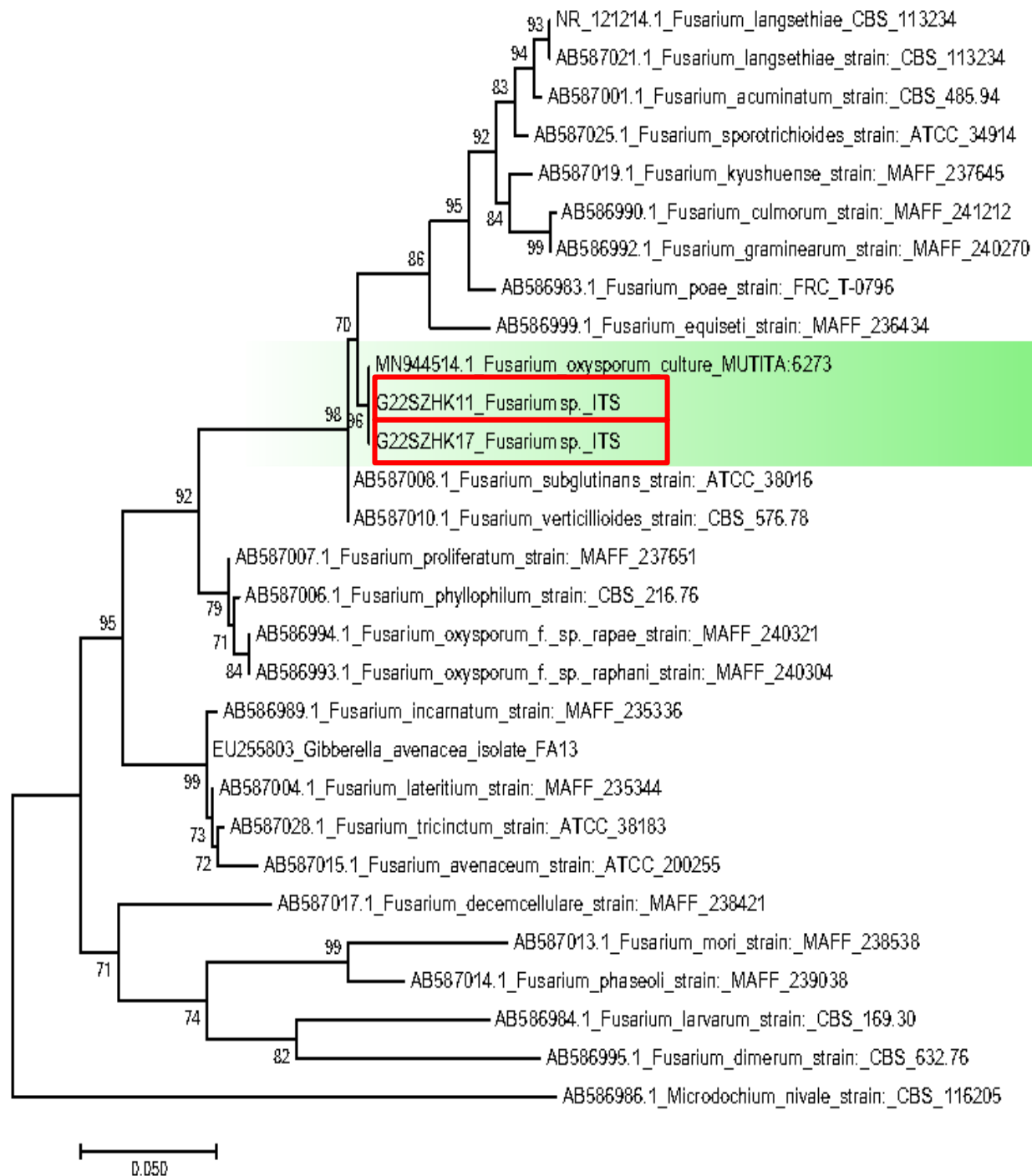
Грибы

- ITS
- Ген кальмодулина
- Ген бета-тубулина
- Ген фактора элонгации трансляции



Бактерии

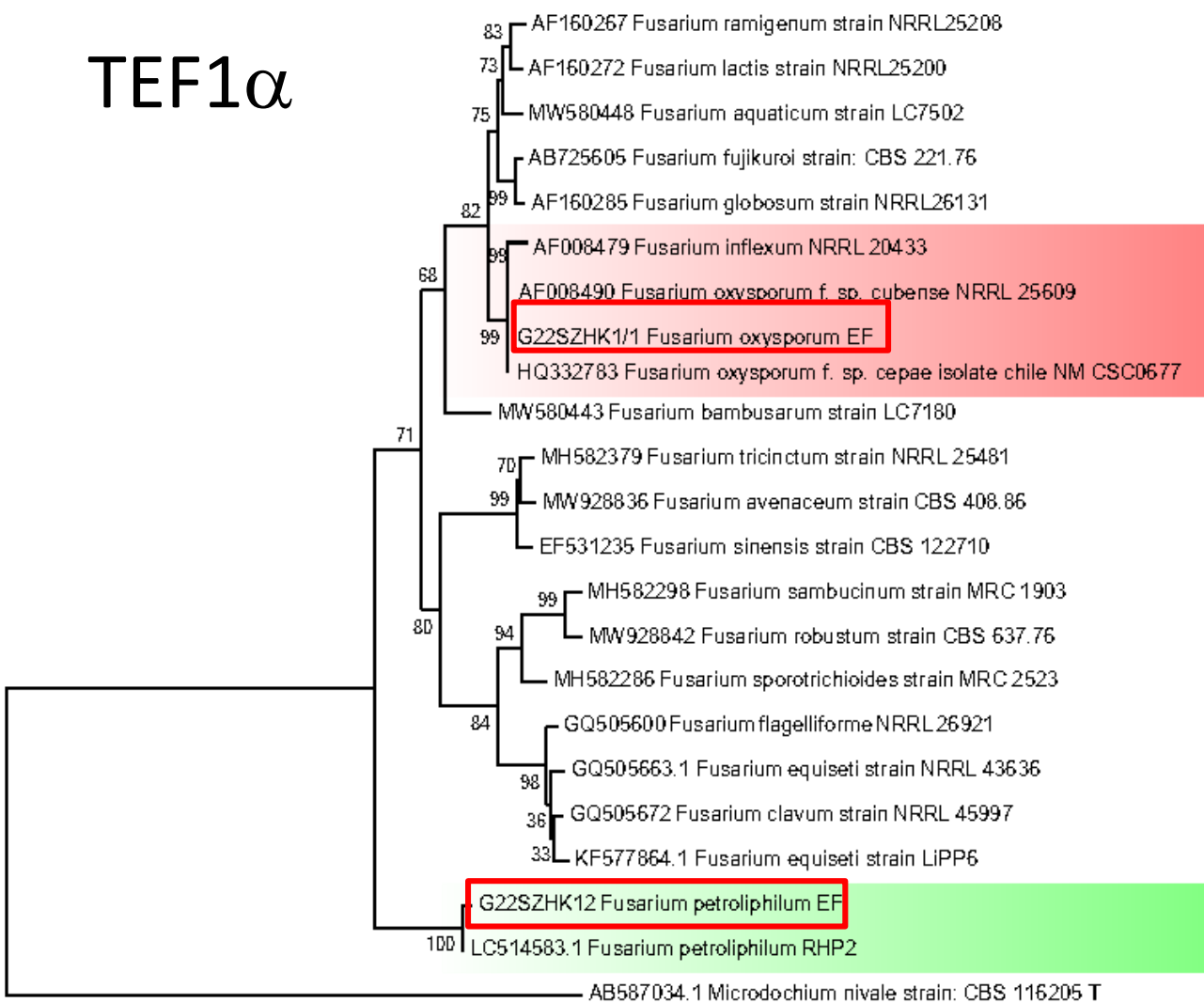
- Рибосомный ген 16S
- Ген гиразы



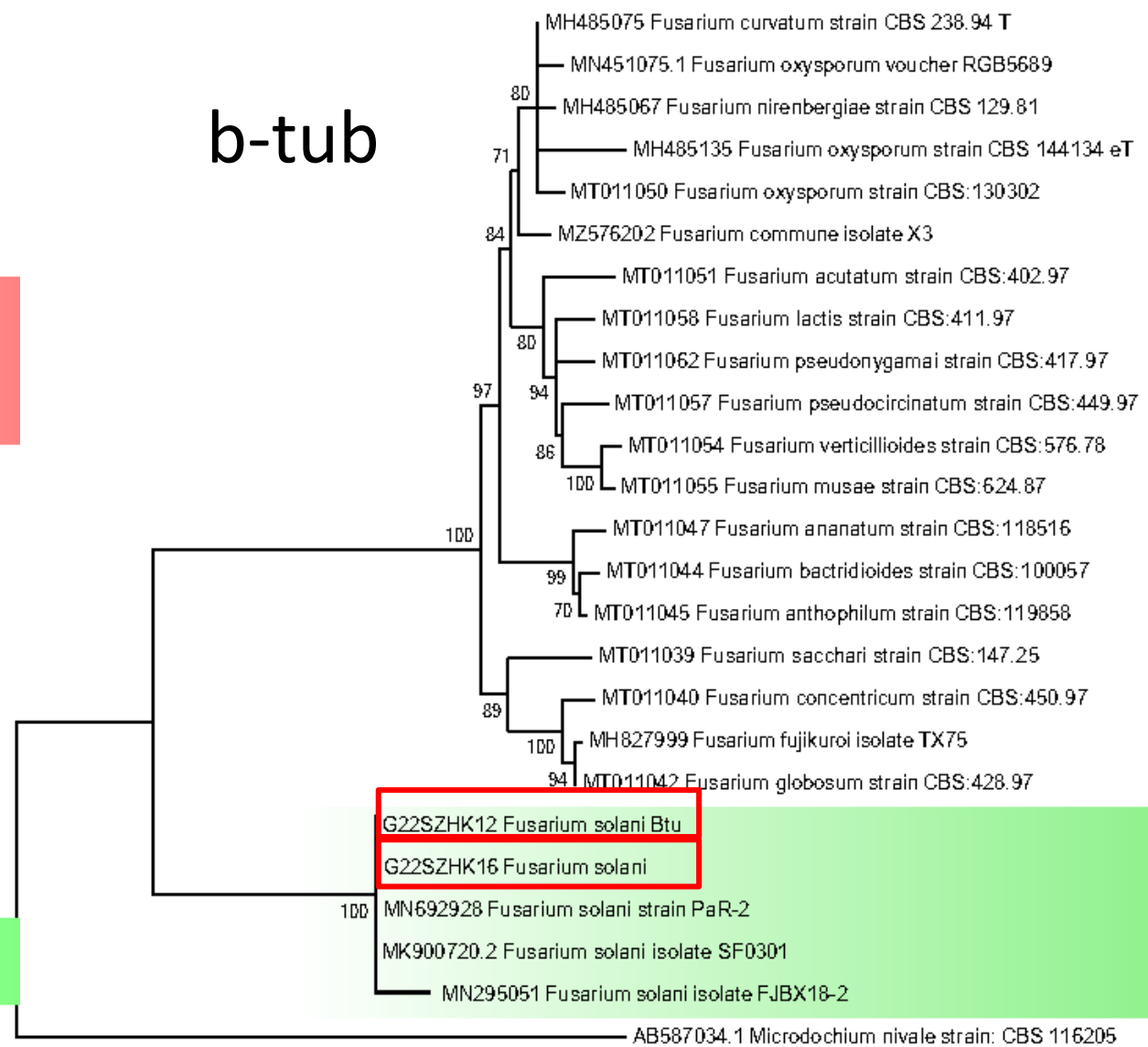
Построение филогенетических кладограмм

Дендрограмма, построенная
методом максимального
правдоподобия при 1000
итерациях бутстрепа по
последовательностям ITS1-5,8s-
ITS2 участка рДНК для рода
Fusarium

TEF1α



b-tub



Дендрограммы для рода *Fusarium*, построенные методом максимального правдоподобия при 1000 итерациях бутстрепа

Грибы, выделенные из СОЖ



Oxyporus corticola



Schizophyllum commune



Penicillium echinulatum



Penicillium copticola



Fusarium oxysporum



Fusarium solani

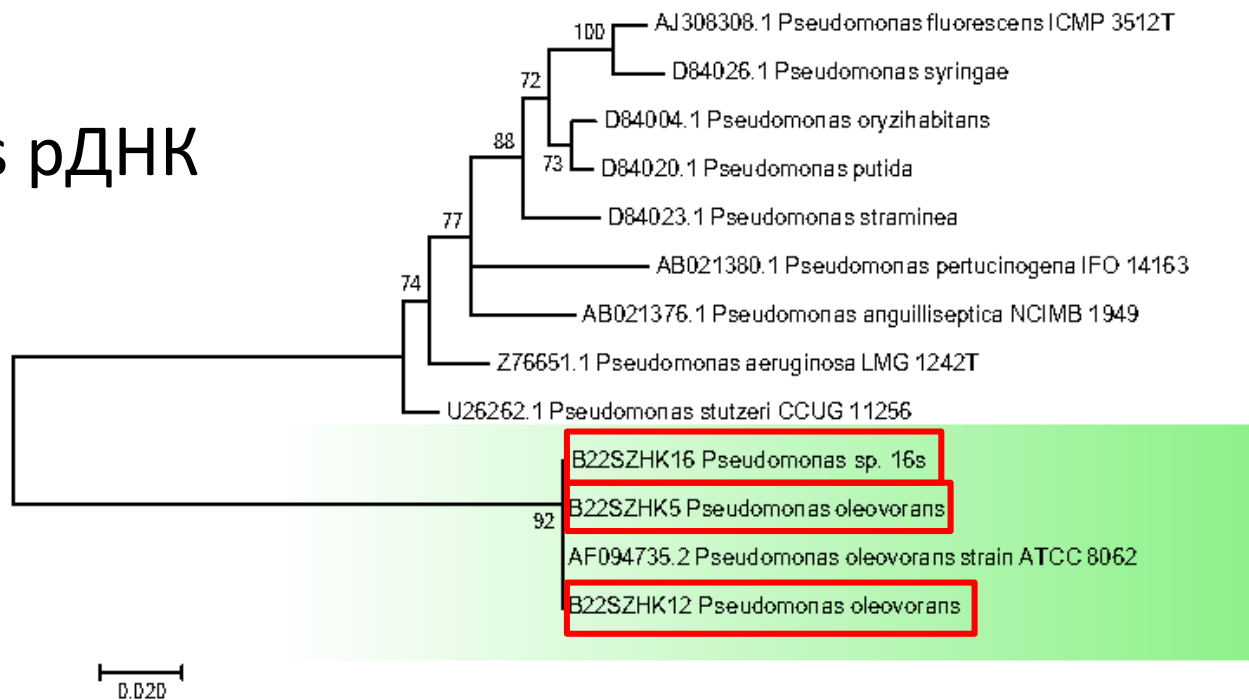


Fusarium petroliphilum



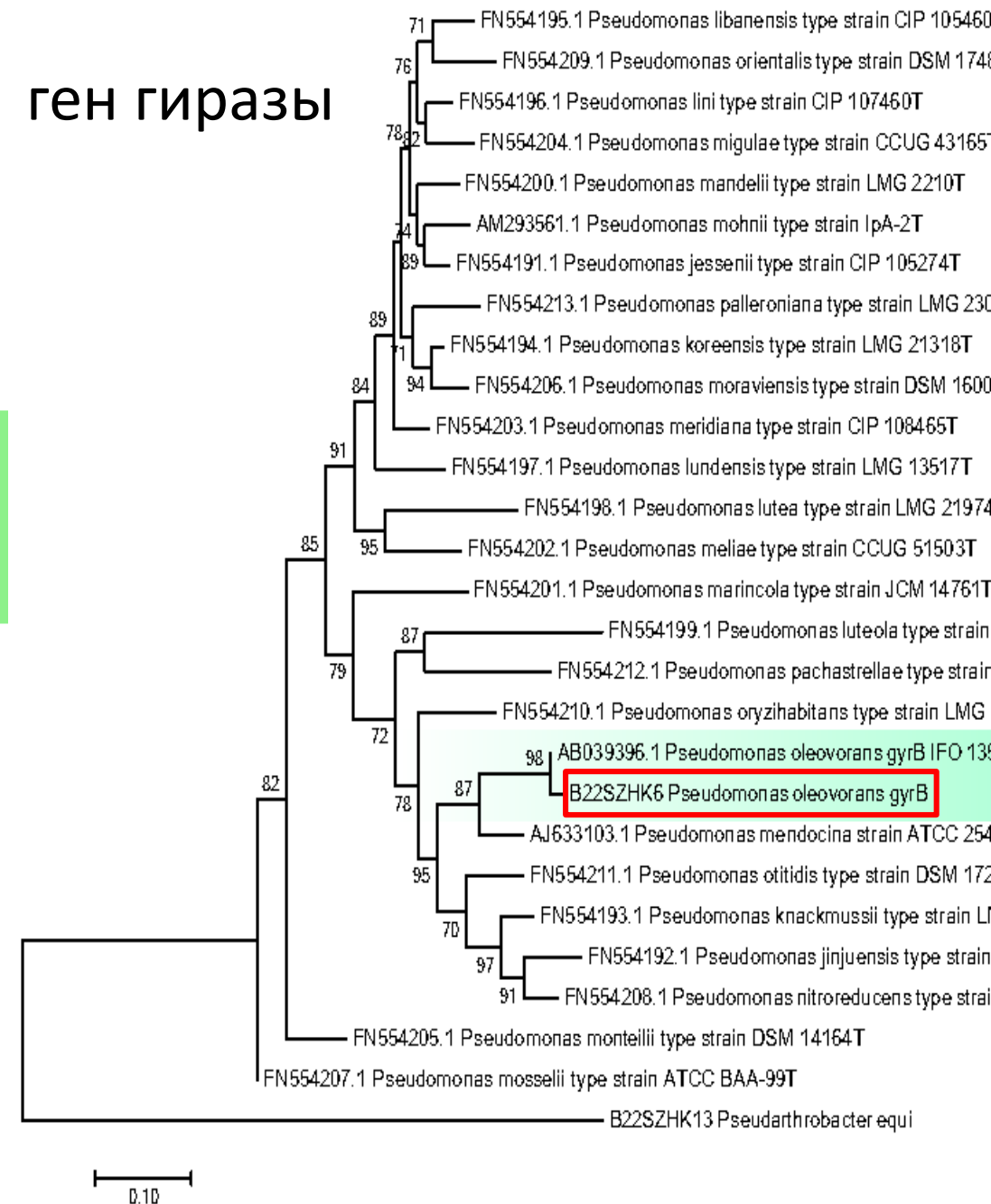
Aspergillus sp.

16s рДНК



Дендрограммы, построенные
методом максимального
правдоподобия при 1000 итерациях
бутстрепа
для рода *Pseudomonas*

ген гиразы



Бактерии, выделенные из СОЖ



Bacillus velezensis



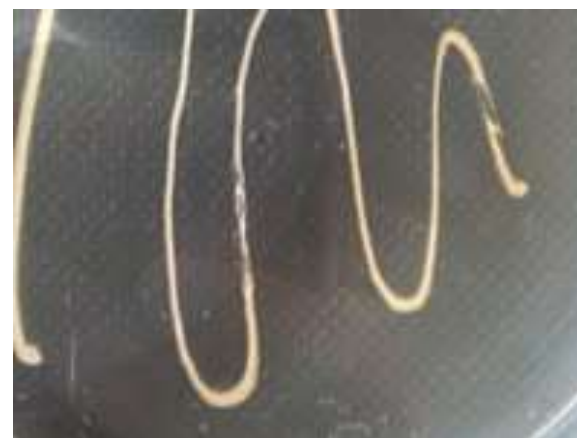
Pseudomonas oleovorans



Arthrobacter sp.



Pseudomonas sp.



Staphylococcus simulans

По сравнению с работами, выполненными ранее в нашей лаборатории

Грибы

(Санджиева и др. , 2021; Еланский и др. 2022)

Fusarium oxysporum

Fusarium solani

Fusarium petroliphilum

Cladosporium sp.

Penicillium chrysogenum

Yarrowia lipolytica

Cadophora sp.

Pleurostoma richardsiae

Candida parapsilosis

Candida metapsilosis

Oxyporus corticola

Schizophyllum commune

Penicillium echinulatum

Penicillium copticola

***Aspergillus* sp.**

**М/о,
выделенные
в чистую
культуру
ранее**

**Новые виды
для СОЖ**

**Новые виды
для
лаборатории**

Бактерии

Pseudomonas sp.

Staphylococcus simulans

Stenotrophomonas maltophilia

Shewanella putrefaciens

Aeromonas hydrophila

Pseudomonas aeruginosa

Proteus sp.

Enterococcus faecalis

Lysinibacillus fusiformis

Delftia acidovorans

Brevundimonas mediterranea

Trabulsiella sp.

Bacillus velezensis

Pseudomonas oleovorans

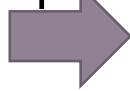
***Arthrobacter* sp.**

Задача 2. Оценить степень развития грибов в СОЖ

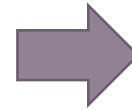


Свежая СОЖ

Разлив
СОЖ в
чашки
Петри



14
суток,
комнат.
темп.



Смыв спор или
клеточная
суспензия



активный рост
гриба

слабый рост

отсутствие
роста

Степень развития грибов в СОЖ

(на 14-е сутки культивирования)

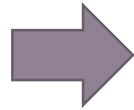
Сильный рост	Слабый рост	Отсутствие роста
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Schizophyllum commune</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	
<i>Fusarium petroliphilum</i>	<i>Penicillium copticola</i>	
<i>Oxyporus corticola</i>	<i>Penicillium echinulatum</i>	
	<i>Talaromyces amestolkiae</i>	
	<i>Talaromyces rugulosus</i>	

Задача 2. Оценить степень развития **бактерий** в СОЖ

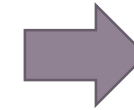


Свежая СОЖ

Разлив СОЖ в
чашки Петри



7 суток,
комнат.
темп.

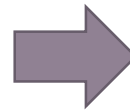


Бактерии в СОЖ



Бактериальная
суспензия

инокуляция



Посев на твёрдую питательную среду



КОЕ/мл **до** СОЖ



КОЕ/мл **после** СОЖ

Степень развития бактерий в СОЖ

(на 7-е сутки культивирования)

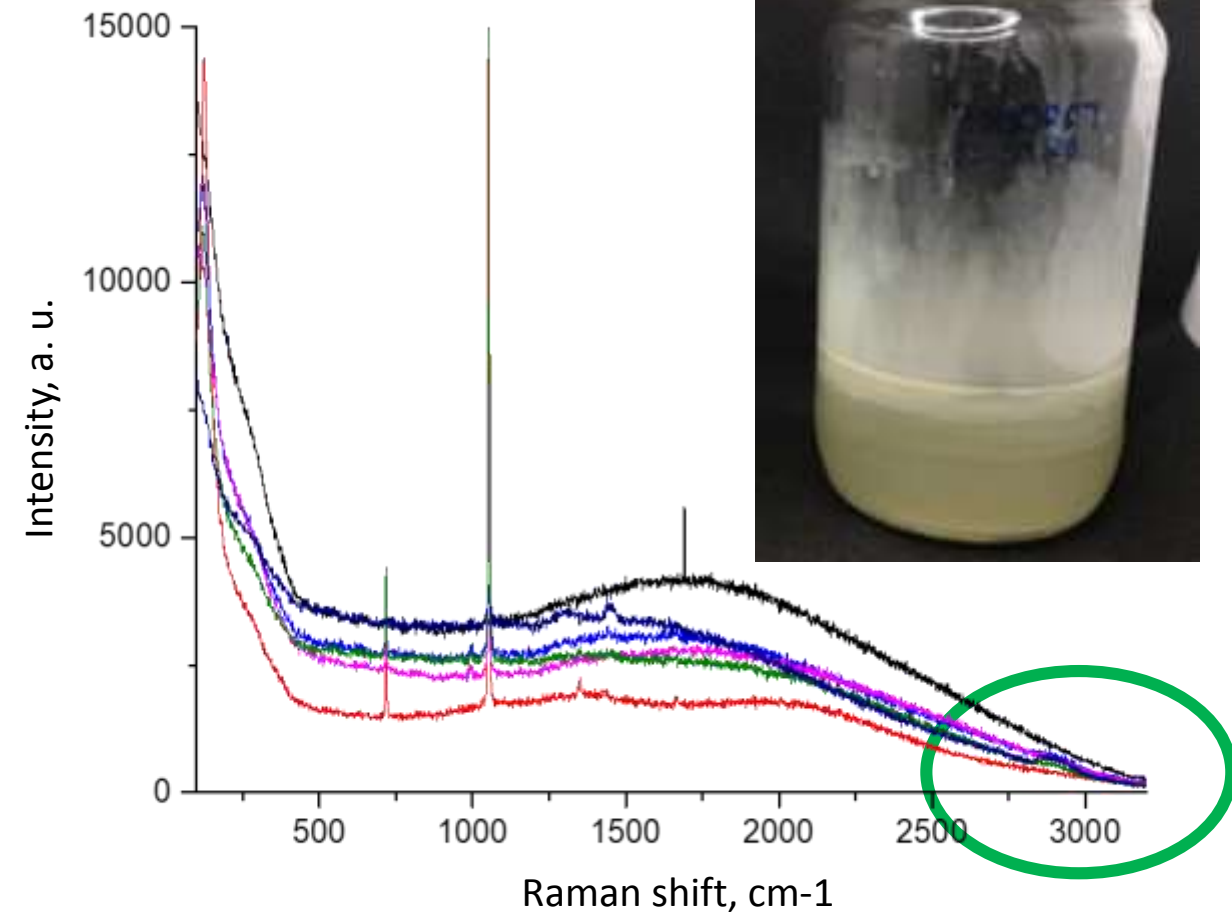
Вид	Увеличение концентрации КОЕ, раз
<i>Pseudomonas oleovorans 1</i>	1 000 000
<i>Pseudomonas oleovorans 2</i>	653 333
<i>Pseudarthrobacter sp.</i>	41 538
<i>Staphylococcus simulans</i>	180
<i>Bacillus velezensis</i>	59

Анализ СОЖ после инкубирования с микроорганизмами методом рамановской спектроскопии



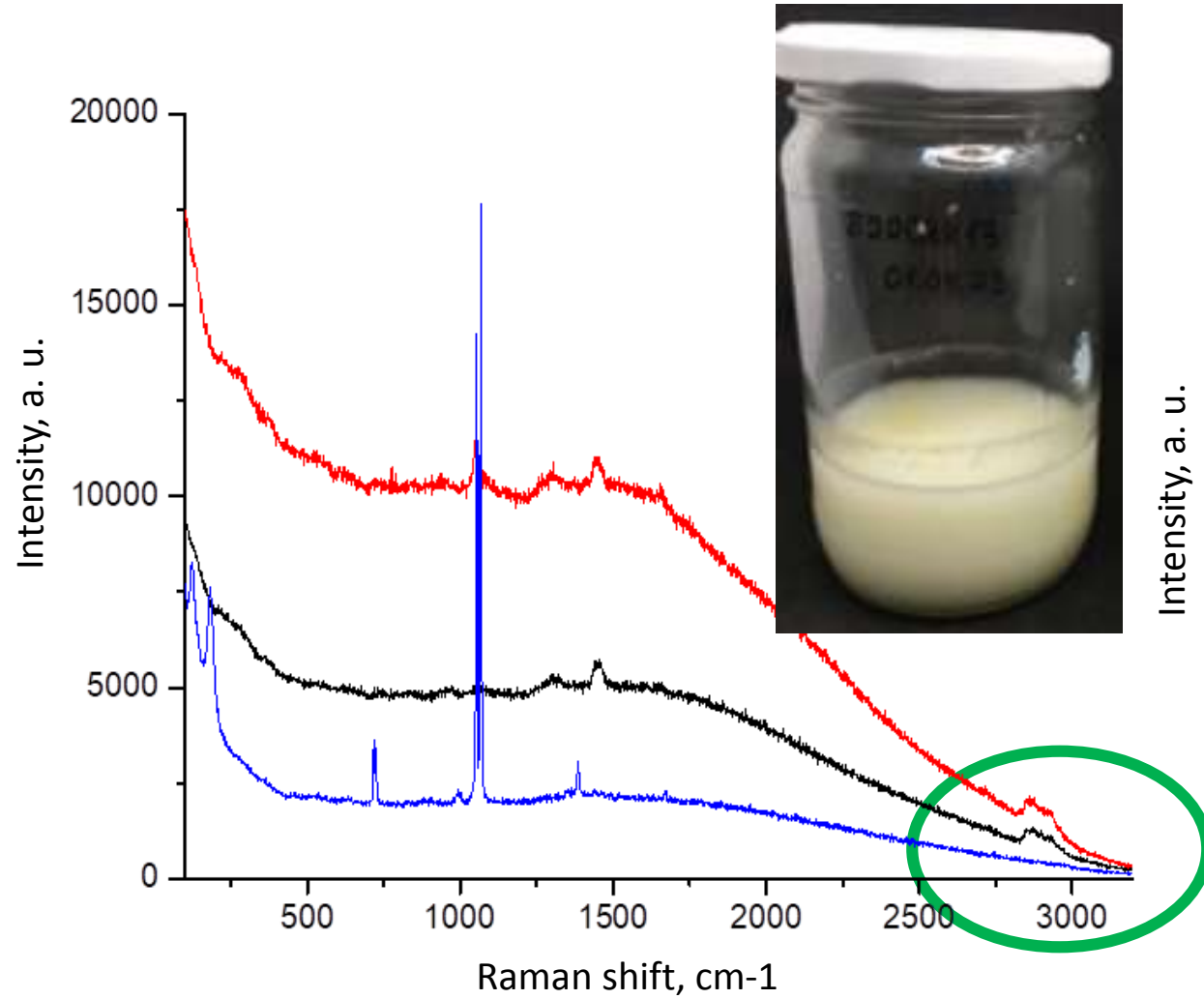
Контроль - СОЖ без микроорганизмов

*Инкубировали 21 день, t комн.

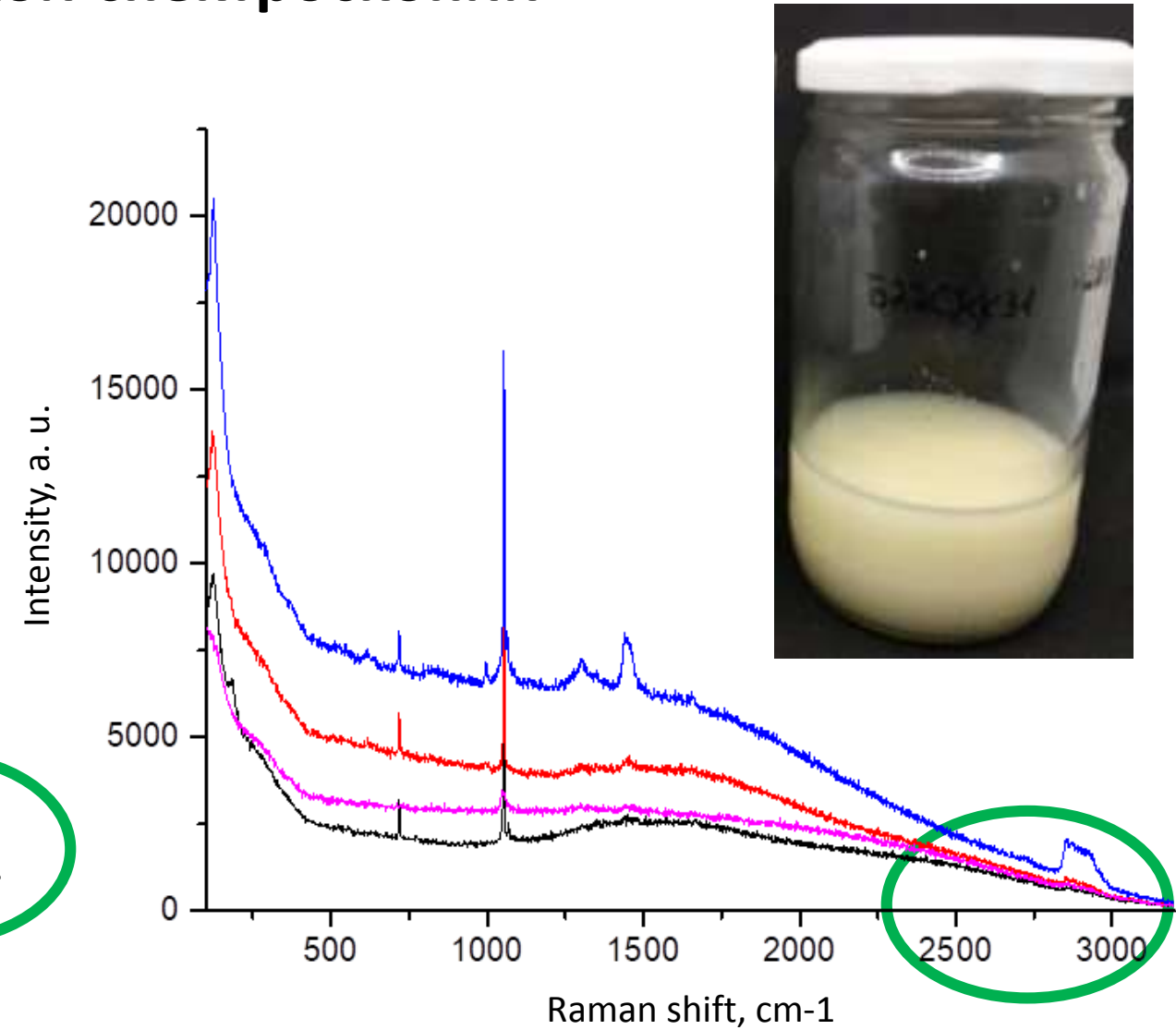


С грибом *Ophurus corticola*

Анализ СОЖ после инкубирования с микроорганизмами методом рамановской спектроскопии



С бактерией *Pseudarthrobacter* sp.



С бактерией *Pseudomonas oleovorans*

ВЫВОДЫ

1. При анализе СОЖ обнаружены
5 таксонов **бактерий** и 8 таксонов **грибов**
2. *Oxyporus corticola* и *Schizophyllum commune*
обнаружены в СОЖ впервые
3. Самое активное развитие в СОЖ показали
бактерия *Pseudomonas oleovorans* и
грибы *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium petroliphilum*, *Oxyporus corticola*

Благодарности

С.Н. Еланский

Л.Ю. Кокаева

М.А. Побединская

М.М. Ярмеева

Е.М. Чудинова

Е.В. Переведенцева

Спасибо за внимание!