

Министерство образования и науки Российской Федерации
 Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
 высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**



Институт неразрушающего контроля
 Направление подготовки 20.04.01 Техносферная безопасность
 Кафедра экологии и безопасности жизнедеятельности

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы
<i>Определение типа опасности почвы, контаминированной наночастицами, по показателям микробиологической активности</i>

УДК 631.427.22:544.7

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1EM51	Шубенко Дарья Юрьевна		

Руководитель

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший научный сотрудник НИ ТГУ	Луцаева Инна Владимировна	к.б.н.		

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент каф. МЕН ИСГТ	Баннова Кристина Алексеевна	к.э.н.		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент каф. ЭБЖ ИНК	Сечин Андрей Александрович	к.т.н.		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Зав. кафедрой	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Зав. каф. ЭБЖ ИНК	Романенко Сергей Владимирович	д.х.н.		

ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ООП

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)
<i>Профессиональные компетенции</i>	
P1	Применять <i>глубокие</i> математические, естественно-научные, социально-экономические и профессиональные знания при осуществлении изысканий и <i>инновационных</i> проектов создания и оптимизации методов и средств обеспечения безопасности человека и окружающей среды от техногенных и антропогенных воздействий
P2	<i>Создавать</i> и использовать на основе <i>глубоких и принципиальных</i> знаний необходимое оборудование, инструменты и технологии по защите человека в техносфере, а также для повышения надежности и устойчивости технических объектов, поддержания их функционального назначения в условиях <i>жестких</i> экономических, экологических, социальных и других ограничений
P3	Проводить <i>инновационные</i> инженерные исследования опасных природных и техногенных процессов и систем защиты от них, включая <i>критический анализ данных из мировых информационных ресурсов, формулировку выводов в условиях неоднозначности</i> с применением <i>глубоких и принципиальных</i> знаний и <i>оригинальных</i> методов в области современных информационных технологий, современной измерительной техники и методов измерения
P4	Организовывать и руководить деятельностью подразделений по защите среды обитания и безопасному размещению и применению технических средств в регионах, осуществлять взаимодействие с государственными службами в области экологической, производственной, пожарной безопасности, защиты в чрезвычайных ситуациях, применять на практике теории принятия управленческих решений и методы экспертных оценок
P5	Организовывать мониторинг в техносфере, составлять краткосрочные и долгосрочные прогнозы развития ситуации на основе его результатов с использованием <i>глубоких фундаментальных и специальных</i> знаний, аналитических методов и <i>сложных</i> моделей <i>в условиях неопределенности</i> , анализировать и оценивать потенциальную опасность объектов экономики для человека и среды обитания и разрабатывать рекомендации по повышению уровня безопасности объекта
P6	Проводить экспертизу безопасности и экологичности технических проектов, производств, промышленных предприятий и территориально-производственных комплексов, аудит систем безопасности, осуществлять мероприятия по надзору и контролю на объекте экономики, территории в соответствии с действующей нормативно-правовой базой
<i>Общекультурные компетенции</i>	
P7	Использовать <i>глубокие</i> знания в области проектного <i>менеджмента</i> , в том числе <i>международного менеджмента</i> , находить и принимать управленческие решения с соблюдением профессиональной этики и норм ведения <i>инновационной</i> инженерной деятельности с учетом юридических аспектов в области техносферной безопасности
P8	<i>Активно владеть иностранным языком</i> на уровне, позволяющем работать в интернациональной профессиональной среде, включая разработку документации, презентацию и защиту результатов <i>инновационной</i> инженерной деятельности

P9	Эффективно работать индивидуально, а также в качестве <i>руководителя группы</i> с ответственностью за работу коллектива при решении инновационных инженерных задач в области техносферной безопасности, демонстрировать при этом готовность следовать профессиональной этике и нормам
P10	Демонстрировать <i>глубокое знание</i> правовых, социальных, экологических и культурных аспектов <i>инновационной</i> инженерной деятельности, <i>компетентность</i> в вопросах охраны здоровья и безопасности жизнедеятельности
P11	Понимать необходимость и уметь <i>самостоятельно учиться</i> и повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности

Министерство образования и науки Российской Федерации
 Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
 высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**



Институт неразрушающего контроля
 Направление подготовки (специальность) 20.04.01 Техносферная безопасность
 Кафедра экологии и безопасности жизнедеятельности

УТВЕРЖДАЮ:
 Зав. кафедрой
 _____ Романенко С.В.
 (Подпись) (Дата) (ФИО)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

<i>магистерской диссертации</i>

Студенту:

Группа	ФИО
<i>1EM51</i>	<i>Шубенко Дарье Юрьевне</i>

Тема работы:

<i>Определение типа опасности почвы, контаминированной наночастицами, по показателям микробиологической активности</i>
--

Утверждена приказом директора ИНК (дата, номер)	1290/с от 01.03.2017
---	----------------------

Срок сдачи студентом выполненной работы:	07.06.2017
--	------------

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i></p>	<p><i>Литературные данные по исследованию воздействия наночастиц на почвенное микробиологическое сообщество, методические рекомендации по проведению лабораторных исследований, образцы исследуемых почв.</i></p>
<p>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов</p> <p><i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p>	<p><i>Аналитический обзор литературы, постановка цели и задач исследования, выбор метода исследования, разработка модели, оценка и анализ результатов исследования, составление разделов «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение», «Социальная ответственность», выводы по исследовательской работе.</i></p>

Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i>	
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы <i>(с указанием разделов)</i>	
Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Баннова Кристина Алексеевна
Социальная ответственность	Сечин Андрей Александрович
Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:	
Обзор литературы	

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	
---	--

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший научный сотрудник НИ ТГУ	Луцаева Инна Владимировна	к.б.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1ЕМ51	Шубенко Дарья Юрьевна		

Министерство образования и науки Российской Федерации
 Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
 высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт неразрушающего контроля
 Направление подготовки (специальность) 20.04.01 Техносферная безопасность
 Уровень образования магистратура
 Кафедра экологии и безопасности жизнедеятельности
 Период выполнения весенний семестр 2016/2017 учебного года

Форма представления работы:

<i>магистерская диссертация</i>

**КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН
 выполнения выпускной квалификационной работы**

Срок сдачи студентом выполненной работы:	07.06.2017
--	------------

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
1.03.17	Составление и утверждение технического задания на средства автономного мониторинга	10
1.03.17	Выдача задания на тему	10
2.03.17	Постановка задачи	10
5.03.17	Определение стадий, этапов и сроков разработки	5
10.05.17	Проведение теоретических расчетов и экспериментальных исследований	40
15.05.17	Согласование полученных данных с руководителем	10
20.05.17	Работа над выводом	10
29.05.17	Составление расчетно-пояснительной записки	5

Составил преподаватель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший научный сотрудник НИ ТГУ	Луцаева Инна Владимировна	к.б.н.		

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Зав. каф. ЭБЖ	Романенко Сергей Владимирович	д.х.н.		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И
РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»**

Студенту:

Группа	ФИО
1EM51	Шубенко Дарье Юрьевне

Институт	ИНК	Кафедра	ЭБЖ
Уровень образования	Магистратура	Направление/специальность	Техносферная безопасность

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих.

2. Нормы и нормативы расходования ресурсов.

3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования.

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

1. Предпроектный анализ

1.1. Потенциальные потребители результатов исследования
1.2. Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения
1.3. SWOT-анализ
1.4. Оценка готовности проекта к коммерциализации

– 2. Инициация проекта

2.1. Цели и результат проекта
2.2. Организационная структура проекта
2.3. Ограничения и допущения проекта

– 3. Планирование управления научно-техническим проектом

3.1. Иерархическая структура работ проекта
3.2. Контрольные события проекта
3.3. План проекта
3.4. Бюджет научного исследования

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

1. Сегментирование рынка
2. Оценка конкурентоспособности технических решений
3. Матрица SWOT
4. Иерархическая структура работ
5. График проведения и бюджет НИИ
6. Потенциальные риски

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ассистент каф. МЕН ИСГТ	Баннова Кристина Алексеевна	К.Э.Н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1EM51	Шубенко Дарья Юрьевна		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»**

Студенту:

Группа	ФИО
1EM51	Шубенко Дарье Юрьевне

Институт	ИНК	Кафедра	ЭБЖ
Уровень образования	Магистратура	Направление/ специальность	Техносферная безопасность

– Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
<p>1. Описание рабочего места (рабочей зоны, технологического процесса, механического оборудования) на предмет возникновения:</p> <ul style="list-style-type: none"> – вредных проявлений факторов производственной среды (метеоусловия, вредные вещества, освещение, шумы, вибрации, электромагнитные поля, ионизирующие излучения); – опасных проявлений факторов производственной среды (механической природы, термического характера, электрической, пожарной и взрывной природы); – негативного воздействия на окружающую природную среду (атмосферу, гидросферу, литосферу); – чрезвычайных ситуаций (техногенного, стихийного, экологического и социального характера). 	<p>Лаборатория биоразнообразия и экологии научно-исследовательского института биологии и биофизики Томского государственного университета,</p>
2. Перечень законодательных и нормативных документов по теме	–
– Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
<p>– 1. Профессиональная социальная ответственность)</p>	<p>1.1. Анализ вредных и опасных факторов, которые может создать объект исследования. 1.2. Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований. 1.3. Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов.</p>
2. Экологическая безопасность	<p>2.1. Анализ влияния объекта исследования на окружающую среду. 2.2. Анализ влияния процесса исследования на окружающую среду. 2.3. Обоснование мероприятий по защите окружающей среды.</p>
3. Безопасность в чрезвычайных ситуациях	<p>3.1. Анализ вероятных ЧС, которые может инициировать объект исследований. 3.2. Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований. 3.3. Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС.</p>
4. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	<p>4.1. Специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства. 4.2. Организационные мероприятия при</p>

	<i>компоновке рабочей зоны.</i>
--	---------------------------------

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
---	--

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Сечин Андрей Александрович	к.т.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1EM51	Шубенко Дарья Юрьевна		

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа включает в себя 120 страниц, 10 рисунков, 31 таблицу, 83 источника, 1 приложение.

Ключевые слова: наночастицы платины, наночастицы оксида цинка, почвенная микробиота, азотфиксация, нитрификация, биологическая активность почвы.

Объектом исследования являются показатели микробиологической активности почвы: общее микробное число, процессы азотфиксации и нитрификации.

Цель работы – изучение вероятного негативного воздействия наночастиц платины и оксида цинка на микробиологическую активность почвы, а также определение типа опасности почв, загрязнённых этими наночастицами, согласно с санитарными правилами по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления.

В процессе исследования проводился микробиологический анализ по определению токсичности высокодисперсных материалов для почвенной микрофлоры.

В результате исследования наночастицы платины и оксида цинка по степени воздействия на серые лесные и тёмно-серые лесные почвы были отнесены к чрезвычайно опасным отходам, а почвы, контаминированные ими – к сильно загрязнённым.

Область применения: сфера производства и использования наночастиц платины и оксида цинка, сельское хозяйство.

Экономическая эффективность/значимость работы: были произведены расчёты себестоимости написания магистерской диссертации с учётом затрат на материалы, оборудование, оплату труда работников (руководителя и инженера), а также с учётом страховых взносов и накладных расходов.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ, СОКРАЩЕНИЯ, НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

Нормативные ссылки

При написании настоящей магистерской диссертации были использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

- 1.ГОСТ Р 1.5 – 2012 Стандартизация в Российской Федерации. Стандарты национальные Российской Федерации. Правила построения, изложения, оформления и обозначения.
- 2.ГОСТ 2.104 – 2006 Единая система конструкторской документации. Основные надписи.
- 3.ГОСТ 2.105 – 95 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам.
- 4.ГОСТ 2.106 – 96 Единая система конструкторской документации. Текстовые документы.
- 5.ГОСТ 3.1102 – 2011 Единая система технологической документации. Стадии разработки и виды документов.
- 6.ГОСТ 3.1105 – 2011 Единая система технологической документации. Формы и правила оформления документов общего назначения.
- 7.ГОСТ 7.0.5 – 2008 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая ссылка.
- 8.ГОСТ 7.1 – 2003 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Библиографическое описание.
- 9.ГОСТ 7.9 – 95 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация.
10. ГОСТ 7.32 – 2001 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчёт о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

11. ГОСТ 8.417 – 2002 Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы величин.

Определения

При написании настоящей магистерской диссертации были использованы следующие термины с соответствующими определениями:

Высокодисперсные материалы – материалы с величиной частиц в интервале от 1 нм до 1 мкм. Включают класс «наноматериалы».

Дисперсная система – смесь, состоящая, как минимум, из двух веществ, которые совершенно или практически не смешиваются друг с другом и не реагируют друг с другом химически. Первое из веществ (дисперсная фаза) мелко распределено во втором (дисперсионная среда, диспергатор). Обычно дисперсные системы, содержащие ВДМ или наночастицы – это коллоидные растворы.

Наноматериалы – материалы, созданные с использованием наночастиц и/или посредством нанотехнологий, обладающие какими-либо уникальными свойствами, обусловленными присутствием этих частиц в материале. К наноматериалам относят объекты, хотя бы один из характерных размеров которых лежит в интервале от 1 до 100 нм. В контексте данной методики к ним относятся: наночастицы, нанотрубки и нановолокна, нанодисперсии (коллоиды), нанокристаллы и нанокластеры.

Наночастица (НЧ) – изолированный твердофазный объект, имеющий отчётливо выраженную границу с окружающей средой, размеры которого во всех трёх измерениях составляют от 1 до 100 нм.

Суспензия – это грубодисперсная система с твёрдой дисперсной фазой и жидкой дисперсионной средой. Обычно частицы дисперсной фазы настолько велики (более 10 мкм), что оседают под действием силы тяжести (седиментируют). Суспензии, в которых седиментация идёт очень медленно из-за малой разницы в плотности дисперсной фазы и дисперсионной среды,

иногда называют взвешьями. В концентрированных суспензиях легко возникают дисперсные структуры. Типичные суспензии - пульпы, буровые промывочные жидкости, цементные растворы и т.д.

Токсичность – способность ряда веществ и химических соединений оказывать негативное действие на организм живых существ.

Обозначения и сокращения

ВДМ – высокодисперсные материалы

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КОЕ – колониеобразующие единицы

МПА – мясо-пептонный агар

НЧ – наночастица

ОМЧ – общее микробное число

РФК – реактивные формы кислорода

5.1.4	Степень готовности проекта к коммерциализации	60
5.2	Инициация проекта.....	61
5.2.1	Цели и результат проекта	61
5.2.2	Организационная структура проекта	63
5.2.3	Ограничения и допущения проекта.....	63
5.3	Планирование управления научно-техническим проектом.....	64
5.3.1.	Иерархическая структура работ проекта	64
5.3.2.	Контрольные события проекта	66
5.3.3	План проекта.....	66
5.3.4	Бюджет научного исследования	69
5.3.5	Матрица ответственности	77
5.3.6	Реестр рисков проекта	78
5.3.7	Вывод.....	80
6	СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ.....	81
6.1	Профессиональная социальная безопасность.....	82
6.1.1	Анализ вредных и опасных факторов, которые может создать объект исследования	83
6.1.2	Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований	84
6.1.3	Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов.....	90
6.2	Экологическая безопасность	91
6.2.1	Анализ влияния объекта исследования на окружающую среду	91
6.2.2	Обоснование мероприятий по защите окружающей среды.....	92
6.3	Безопасность в чрезвычайных ситуациях	93

6.4 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	94
6.4.1 Специальные (характерные для рабочей зоны исследователя) правовые нормы трудового законодательства	94
6.4.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны исследователя.....	95
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	97
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ	99
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	100
Приложение 1	109

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире уделяется огромное внимание перспективам развития технологий получения и использования материалов в диапазоне размеров до 100 нм. Свойства таких наноматериалов и их биологическая активность используются во многих сферах человеческой деятельности, в том числе и в микроэлектронике, в энергетике, в строительстве, а также в химической, фармацевтической, парфюмерно-косметической, пищевой промышленности и др. Важно иметь в виду, что свойства материалов, состоящих из наноразмерных частиц, существенно отличаются от свойств материалов того же состава, но включающих в себя частицы более крупных размеров. В основном это различие обусловлено увеличением удельной площади поверхности и реакционной способности, которые могут привести к увеличению биодоступности и токсичности.

Несмотря на всё это, данные о воздействии наночастиц на компоненты окружающей среды достаточно редки, однако вероятность загрязнения этих компонентов наночастицами отрицать невозможно.

Транспортировка наночастиц воздушными или водными потоками в конечном итоге заканчивается их попаданием в почвенный покров, где происходит их накопление. Плодородие почв во многом определяется состоянием обитающих в них бактериальных сообществ, определение нарушения состояния которых, вследствие воздействия наночастиц, является крайне актуальным. Однако исследования в данном направлении довольно редки: в основном проводятся исследования, касающиеся изучения влияния наночастиц на чистые культуры микроорганизмов. Однако наночастицы, попадая в почву, оказывают влияние на всё бактериальное сообщество.

Целью настоящей магистерской диссертации стало изучение вероятного негативного воздействия наночастиц платины и оксида цинка на микробиологическую активность почвы, а также определение типа опасности почв, загрязнённых этими наночастицами.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- а) изучить и проанализировать различные литературные источники на тему влияния наночастиц платины и оксида цинка на микроорганизмы, в том числе и почвенные;
- б) определить тип опасности почв, обработанных суспензиями наночастиц платины и оксида цинка по показателям микробиологической активности, включая общее микробное число, азотфиксацию, нитрификацию;
- в) обобщить полученные результаты и сделать соответствующие **ВЫВОДЫ.**

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Нанотехнологии играют важную роль в современном мире. Инженерные наночастицы все чаще используются в потребительских товарах. В диапазоне наноразмеров свойства материалов существенно отличаются от материалов того же состава обычной размерности, однако данные о воздействии наночастиц на окружающую среду редки.

При переносе воздушными и водными потоками наночастицы, в конечном итоге, попадают в почву, где происходит их накопление, что создаёт предпосылки последующей передачи по пищевым цепям в растения и далее – к животным.

Поскольку бактериальное сообщество почвы во многом определяет основное свойство почвы – плодородие, крайне актуальным является определение рисков нарушения состава и свойств почвенных микробных сообществ, следовательно, и биологических характеристик почвы. Исследований в данном направлении крайне мало. В основном в литературе публикуются данные, касающиеся изучения влияния наночастиц на чистые культуры микроорганизмов. Однако при попадании в почву могут меняться как свойства дисперсных систем, содержащих наночастицы, так и эффекты их воздействия на почвенное бактериальное сообщество в целом.

При написании литературного обзора были изучены литературные источники, рассматривающие влияние наночастиц платины и оксида цинка на различные микроорганизмы, в том числе и почвенные. Ниже приведён обзор литературных источников для каждого из вышеозначенных видов наночастиц.

1.1 Влияние наночастиц оксида цинка на микроорганизмы

В основном, исследование влияния наночастиц оксида цинка на микроорганизмы производится на чистых культурах. Работы,

анализирующие состояние микробного сообщества почвы в целом, немногочисленны.

Группа учёных (Chai и другие) исследовала влияние различных наночастиц (в т.ч. и ZnO) на микробиологические процессы в почвах [1]. Токсикологический эффект оценивали с помощью термического метаболизма, распространённости функциональных бактерий и ферментативной активности. Было обнаружено, что наночастицы ZnO препятствуют термогенному обмену веществ, уменьшают в почве количество азотистых бактерий, препятствуют П-солубилизации и К-солубилизации бактерий, а также затормаживают ферментативную активность [1].

Collins с соавторами в своей работе указывают, что, при анализе микробных сообществ почвы с использованием культурно-зависимых и независимых методов, наночастицы ZnO способны изменять структуру микробного сообщества [2]. Гипотезу о том, что воздействие наночастиц существенно изменяет микробное сообщество, можно подтвердить методом пиросеквенирования. В частности, бактерии двух порядков – *Flavobacteriales* и *Sphingomonadales*, обнаруженные в ризосфере, были особенно чувствительны к присутствию наночастиц оксида цинка. Ge с соавторами с помощью метода пиросеквенирования изучали влияние наночастиц оксида цинка на микробное почвенное сообщество, результаты исследования показали изменение структуры сообщества [3]. Отмечается снижение представителей таксонов, связанных с фиксацией азота (*Rhizobiales*, *Bradyrhizobiaceae* и *Bradyrhizobium*) и окислением метана (*Methylobacteriaceae*), в то же время увеличилось представительство бактерий таксонов, связанных с разложением органических загрязнителей (*Sphingomonadaceae*) и биополимеров, в том числе белка (*Streptomycetaceae* и *Streptomyces*), что указывает на возможные масштабные последствия для экосистем [3].

В других работах отмечается снижение роста почвенных бактерий под влиянием наночастиц ZnO [4, 5]. В результате своих исследований Rousk с

соавторами приходят к выводу, что для почвенных бактерий токсичные все формы Zn, кроме того, ZnO в макроформе более токсичен, чем нано-ZnO. Полученные Rousk с соавторами результаты свидетельствуют о том, что основным механизмом токсичности было растворение оксидов металлов и сульфатов в виде ионов металлов, что, как известно, высоко токсично для бактерий, а не прямой эффект наноразмерных частиц, действующих на бактерии [4].

В работах других авторов, помимо вышеперечисленного, упоминаются также следующие изменения в состоянии почвенных микробных сообществ при внесении в почву наночастиц оксида цинка: снижение общей микробной активности, уменьшение общего микробного числа, снижение бактериального разнообразия, изменение структуры почвенного микробного сообщества [6, 7, 8].

Для оценки антибактериальной активности наночастиц ZnO используются разные аналитические методы. Один из наиболее часто применяемых методов – метод разбавления питательной агаризованной среды суспензией наночастиц, добавление культуральной жидкости с тест-бактериями, инкубирование в благоприятных условиях, а затем подсчёт выросших колоний в сравнении с контролем, без внесения наночастиц. В настоящее время, в основном, в качестве модельных бактерий для оценки антибактериальной активности наночастиц ZnO используют граммотрицательную *Escherichia coli* и грамположительный *Staphylococcus aureus*. Исследования с использованием других видов бактерий, таких как *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Lactobacillus*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio fischer*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni* и *Proteus vulgaris* для оценки антибактериальной активности наночастиц ZnO ограничены [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Chitra и Annadurai исследовали антибактериальную активность наночастиц ZnO в отношении *E.coli* и *Pseudomonas aueroginosa*, а также противогрибковую активность наночастиц ZnO в отношении *Aspergillus niger* [16].

Многие авторы в своих исследованиях также показали, что на антибактериальную активность наночастиц ZnO влияет размер самих наночастиц [14, 16, 17, 18]. Yamamoto исследовал влияние размера наночастиц ZnO в диапазоне 100–800 нм на антибактериальную активность [18]. В результате выяснилось, что антибактериальная активность нано-ZnO увеличивается с уменьшением размера частиц. Особенно явно зависимость наблюдалась в диапазоне 100–800 нм на культурах золотистого стафилококка и кишечной палочки. Это же в экспериментах с *S.aureus* и *E.coli* подтвердили другие авторы [17, 19]. Padmavathy и Vijayaraghavan изучали бактерицидную способность суспензии ZnO с тремя различными размерами частиц (12 нм, 45 нм, 2 мкм) в нижнем диапазоне концентраций (0,01–1 мМ) и высоком диапазоне концентраций (5–100 мМ) против кишечной палочки. Результаты показали, что суспензия нано-ZnO с частицами размером 12 нм были более эффективными, чем суспензии с большими размерами частиц [19]. Raghupati с соавторами также установили, что антибактериальная активность наночастиц ZnO обратно пропорциональна их размеру. Ингибирование роста золотистого стафилококка отмечено в присутствии 6 мМ наночастиц ZnO различных размеров от 12 до 307 нм. Дополнительно жизнеспособность клеток золотистого стафилококка определяли путём пересева из растущих в присутствии 6 мМ наночастиц ZnO с размерами от 12 до 307 нм клеток на среду без наночастиц. Было отмечено, что жизнеспособность клеток значительно снизилась с уменьшением размера наночастиц ZnO [14].

В таблице 1.1 представлены примеры зависимости антимикробной активности НЧ оксида цинка от размера частиц [20].

Таблица 1.1 – зависимость антимикробной активности наночастиц оксида цинка от размера частиц (по Shi et al. [20])

Размер частиц (nm)	Тест-организм	Ссылка
100, 800	<i>Escherichia coli</i>	Yamamoto (2001)
12, 45, 2000	<i>E. coli</i>	Padmavathy and Vijayaraghavan (2008)
12 – 307	<i>Staphylococcus aureus</i>	Raghupati et al. (2011)
50 – 70	<i>S. aureus</i>	Jones et al. (2008)

Продолжение таблицы 1.1

230, 2417	<i>E. coli</i>	Zhang et al. (2007)
-----------	----------------	---------------------

Многими исследователями показано, что антибактериальный эффект наночастиц ZnO зависит не только от размера частиц, но и от их концентрации. Так, например, Jalal с соавторами выяснили, что с увеличением концентрации наночастиц наблюдается повышение антибактериальной активности в отношении кишечной палочки из-за увеличения количества H₂O₂, генерируемого с поверхности ZnO [21]. Wahab с соавторами исследовали антибактериальную активность наночастиц ZnO, в результате чего выяснилось, что рост скорости ингибирования штаммов возрастает с увеличением концентрации наночастиц ZnO от 5 до 45 мкг/мл⁻¹ [22]. Xie с соавторами выяснили, что минимальная ингибирующая концентрация из наночастиц ZnO размером около 30 нм для *S.jejuni* составляет 0,05–0,25 мг/мл⁻¹, а для штаммов *Staphylococcus enteric* и *E. coli* O157:H7 – 0,4 мг/мл⁻¹ [15]. Raghupati с соавторами и Jones с соавторами, также наблюдали разницу в антибактериальной активности наночастиц ZnO различных концентраций для разных штаммов золотистого стафилококка [14, 17].

Yamamoto с соавторами показали, что порошок наночастиц ZnO, состоящий из наносферических частиц со средним диаметром около 30 нм, имел высокую антибактериальную активность. Антибактериальная активность такого порошка возрастала с увеличением значений постоянной решётки в гексагональной структуре порошка нано-ZnO. Образование H₂O₂ во всех образцах нано-ZnO способствовало возникновению антибактериальной активности, увеличение значений в гексагональной структуре повышает возникновение H₂O₂ [23]. Ohira и Yamamoto изучали взаимосвязь между антибактериальной активностью и размером кристаллов ZnO. В результате выяснилось, что ионы Zn²⁺ больше элюируют из наночастиц ZnO, имеющих малый размер кристаллитов, что приводит к более высокой антибактериальной активности [24].

Многие исследования были направлены на изучение антибактериальной активности ZnO по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям. Выяснилось, что наночастицы ZnO имеют более высокую активность по отношению к грамположительным бактериям, нежели к грамотрицательным [15, 17]. Kim и An оценивали влияние наночастиц ZnO на рост *E.coli* и *Bacillus subtilis*. Было установлено, что EC50 (полумаксимальная эффективная концентрация) на *E.coli* наблюдается при концентрации нано-ZnO 80 мг/л⁻¹. Результаты просмотра изображений показали, что обнаруженные в культуре *E.coli* отражатели (рефлекторы) образуются, предположительно, в результате некроза клеток под воздействием наночастиц ZnO. Тем не менее, в культуре *B.subtilis* похожих отражателей не было обнаружено. Исследователи предположили, что причиной может быть, вероятно, разница в структуре клеточных мембран. Клеточная стенка грамположительных бактерий состоит из слоя пептидогликана с тейхоевой и липотейхоевой кислотами [25]. Клеточная стенка грамотрицательных бактерий имеет наружную мембрану, которая в основном состоит из липополисахарида и тонкого слоя пептидогликана [26]. Таким образом, внешняя мембрана грамотрицательных бактерий позволяет уменьшить ущерб от наночастиц ZnO. Applerot с соавторами показывают противоположное в своих исследованиях: грамотрицательные *E.coli* показали более высокую восприимчивость к наночастицам ZnO по сравнению с грамположительными *S. aureus*. Однако исследователи объясняют это тем, что причиной может быть различное содержание внутриклеточных антиоксидантов, таких как пигменты каротиноиды, а также присутствие сильнодействующих агентов детоксикации, таких как антиоксидантные ферменты бактерий [27].

Существуют исследования, рассматривающие антибактериальную активность наночастиц ZnO в сочетании с другими антибактериальными агентами, такие комбинации имеют более высокую активность по сравнению с несвязанными наночастицами ZnO. Gordon с соавторами сочетали

наночастицы ZnO с оксидом железа для получения магнитных наночастиц с антибактериальной активностью. Результаты показали, что антимикробный эффект объединённых наночастиц зависит от соотношения массы Zn/Fe, т.е., чем выше соотношение, тем выше антибактериальная активность [28]. Fang и соавторы изучали влияние легированных алюминием наночастиц оксида цинка на метаболизм почвенных псевдомонад (в частности, *Ps. chlororaphis* Об и *Ps. putida* КТ2440). Результаты исследования показали, что легированные алюминием наночастицы ZnO напрямую воздействуют на метаболизм псевдомонад и влекут за собой такие последствия, как: временная потеря активности, снижение уровня гетероауксина, флуоресцентного сидерофора и феназина [29].

Точный механизм токсичности наночастиц ZnO до сих пор не выяснен. Однако это не помешало ряду авторов предложить некоторые антибактериальные механизмы воздействия наночастиц ZnO, например, формирование реактивной формы кислорода (РФК), взаимодействие наночастиц с бактериями, ведущим к повреждению бактериальных клеток, и высвобождение Zn^{2+} [21, 30]. Многие исследования показывают, что формирование РФК является основным антибактериальным механизмом нано-ZnO [18, 19, 21, 28]. Такие исследования показывают, что наночастицы ZnO в водном растворе могут производить различные РФК, например, гидроксильные радикалы, синглетный кислород или супероксид анион, перекись водорода (H_2O_2). Гидроксильные радикалы и синглетный кислород не могут проникать в клеточные мембраны, однако пероксид водорода может легко проникать в клетку [19]. Образование РФК напрямую зависит от площади поверхности наночастицы ZnO, т.е. чем выше площадь поверхности, тем выше образование РФК [17, 19].

Другой механизм, объясняющий антимикробный эффект наночастиц ZnO, связан с повреждениями бактериальной поверхности [15, 22, 31, 32, 33]. Zhang с соавторами выяснили, что присутствие наночастиц ZnO приводит к повреждению клеточной мембраны *E. coli*. Электрохимические измерения

показали, что такое воздействие может возникать за счёт прямых взаимодействий между наночастицами ZnO и клеточной мембраны при высоких концентрациях наночастиц [31]. В другой своей работе эти авторы указали, что сильное связывание между наночастицами и поверхностью бактерий происходит за счёт электростатических сил и ведёт к повреждению клеточных мембран [32].

Xie с соавторами наблюдали, что при взаимодействии между наночастицами ZnO и *C. jejuni* происходят морфологические изменения, а также утечка внутриклеточного содержимого [15]. Повреждение клеточных мембран при взаимодействии наночастиц ZnO и бактерий, которое ведёт к утечке клеточного содержимого, было также отмечено и Wahab с соавторами при использовании типичной технологии био-ТЕМ. С помощью полученных био-ТЕМ изображений был предложен возможный механизм взаимодействия НЧ ZnO с клеточными мембранами: первоначально наночастицы прикрепляются к наружной мембране клетки, в результате чего формируются ямки в клеточной стенке с последующим пробоем наружной мембраны клетки [22].

Таким образом, можно сделать вывод, что прямое взаимодействие между наночастицами ZnO и бактериальной поверхностью, а также образование РФК приводит к повреждению клеточной мембраны.

1.2 Влияние наночастиц платины на микроорганизмы

Как известно, платина снижает биологическую активность микроорганизмов, взаимодействуя с их ферментами, белками или ДНК, тем самым сдерживая клеточное деление. Платина связывается с бактериальной клеткой, изменяя функциональность клеточной мембраны, таким образом, предотвращая бактериальную регенерацию, что в конечном итоге приводит к гибели клетки [34].

Существуют исследования, показывающие наличие у наночастиц платины антибактериальной активности. Польские исследователи (Sawosz с

соавторами) добавляли гидроколлоиды нано-Pt непосредственно в суспензию бактерий *Salmonella Enteritidis* и *Listeria monocytogenes*. Исследования морфологических изменений при помощи электронной микроскопии показали, что наночастицы Pt проникают в клетки *Listeria monocytogenes*, однако удаляются из клеток после их отмывания. В случае с *Salmonella Enteritidis*, гидроколлоиды нано-Pt были зафиксированы внутри бактериальных клеток, что свидетельствует о высокой вероятности связывания наночастиц с ДНК бактериальных клеток. Даже после промывки и центрифугирования клеток в них были обнаружены частицы комплекса нано-Pt – ДНК *Salmonella Enteritidis*. Среднее число бактериальных клеток, содержащих гидроколлоиды нано-Pt, не изменилось даже после длительной инкубации, что свидетельствует о том, что полученные комплексы нано-Pt – ДНК *Salmonella Enteritidis* являются стабильными [35].

Muthu и соавторы применяли масс-спектрометрию на основе клеточной популяции (CP-MS) для биосинтеза клеток *Chlamydomonas reinhardtii* и *Saccharomyces cerevisiae*. Для повышения чувствительности метода были использованы платиновые нанодоты. Результаты исследования показали, что нанодоты платины способны задерживаться как внутри клеток *Chlamydomonas*, так и в клетках *Saccharomyces cerevisiae*. Детектирование CP-MS для дрожжевых клеток было менее эффективным по сравнению с *Chlamydomonas*, авторы аргументируют это тем, что клетки *Chlamydomonas* примерно в 3 раза больше по сравнению с клетками дрожжей [36].

Ещё одна работа Sawosz с соавторами рассматривает взаимодействие гидроколлоидов нано-Pt с суспензиями клеток бактерий *Staphylococcus aureus* и дрожжей *Candida albicans* [37]. Исследования показывают, что при добавлении нано-Pt к суспензии *S. aureus* происходит разрушение клеточной стенки и цитоплазматических мембран и содержимое клетки (цитоплазма) вытекает. Также гидроколлоиды нано-Pt вызывают разрушение цитоплазматических мембран у *Candida albicans* – в данном случае также происходит утечка некоторых веществ из клетки. Таким образом, коллоиды

нано-платины обладают летальным эффектом для *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* [37]. В работе Rezaei-Zarchi показано, что наночастицы оксида платины также обладают бактерицидным действием против *Pseudomonas stutzeri* и видов *Lactobacillus* [38].

Gopal с соавторами исследовали бактериальную токсичность наночастиц Pt с различными размерами на *Pseudomonas aeruginosa*. Бактериотоксичные свойства были изучены многими аналитическими методами, в том числе методом подсчёта на агаризованной среде, исследованием матрицы с лазерной десорбцией/ионизацией масс-спектрометрии (MALDI-MS), методами флуоресцентной микроскопии и флуоресцентно чувствительными методами. Результаты показали, что наночастицы Pt, размер которых составляет менее 3 нм, имеют ярко выраженные бактериотоксичные свойства. В то же время большие размеры частиц (6–8 нм и 16–18 нм) не оказывают токсическое действие, а, в большинстве случаев, стимулируют усиленный рост бактерий [39]. Похожий результат озвучивают Pan и соавторы, исследования которых показали, что частицы 1–2 нм были высокотоксичными и что наночастицы размером более 15 нм не были токсичны [40]. Pelka с соавторами исследовали влияние на ДНК наночастиц Pt размером 20 нм, < 100 нм и > 100 нм. Результаты показали, что наночастицы Pt размером 20 нм оказывают выраженный эффект на ДНК по сравнению с более крупными размерами частиц [41].

Есть вероятность, что наночастицы Pt меньшего размера взаимодействуют с бактериальными клетками намного легче, чем частицы большего размера. Кроме того, можно предположить, что, поскольку размер пор бактериальной клеточной мембраны составляет несколько нанометров, то доступ для сферических наночастиц небольшого размера в бактериальную клетку проще по сравнению с более крупными наночастицами Pt. Соответственно, после проникновения таких наночастиц в клетки, возникает возможность их взаимодействия с молекулами внутри клетки, особенно с ДНК, что и приводит к разрушению клеток [39].

Konieczny с соавторами определяли антимикробные свойства наночастиц Pt в отношении грамотрицательных (*Escherichia coli*) и грамположительных (*Staphylococcus aureus*) бактерий. Оба штамма обрабатывали наночастицами Pt двух вариантов концентраций (2 и 20 мкг/мл) двух вариантов размеров (5,8 нм и 57 нм). Ингибирование жизнеспособности было значительным и зависело от концентрации только в случае взаимодействия кишечной палочки с мельчайшими наночастицами. Следует отметить, что значительное ингибирование роста наблюдалось уже при концентрации наночастиц Pt 2 мкг/мл и составило примерно $66,5 \% \pm 10,1 \%$ от контрольных клеток. В случае более крупных наночастиц Pt снижение выживаемости кишечной палочки наблюдалось только при самой высокой концентрации, используемой в исследовании (20 мкг/мл), и было оценено в 70 % от контрольных клеток. Полученные для золотистого стафилококка данные на наночастицах Pt размером 5,8 нм не были значимыми. Большие наночастицы (57 нм) не обладают антимикробными свойствами по отношению к золотистому стафилококку. Полученные данные показали, дифференциацию антимикробного потенциала наночастиц Pt [42].

Взаимодействие наночастиц платины с грамположительными бактериями изучали также другие группы учёных. Так, Faheem с соавторами с помощью функционализированных наночастиц Pt изучали возможность улучшения чувствительности метода MALDI-MS. Наночастицы Pt прикреплялись к поверхности грамположительных *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus subtilis*, что улучшало чувствительность метода. Исследование также показало, что нефункционализированные наночастицы Pt не прикрепляются к поверхности *B. thuringiensis* и *B. subtilis* [43].

Антибактериальную способность платины, кроме того, используют также для очистки почв, загрязнённых патогенными микроорганизмами, с помощью фотокатализа. Так, наночастицы платиносодержащего диоксида титана (TiO₂-Pt) демонстрируют значительно более высокую бактерицидную активность по сравнению с другими испытанными образцами, включая УФ-

чувствительные фотокатализаторы. Результаты исследования Tseng и соавторов показали, что фотокаталитические субстраты $\text{TiO}_2\text{-Pt}$ значительно (более чем на 50 %) снижают жизнеспособность таких микроорганизмов, как *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* и *Streptococcus pyogenes* [44].

Zhao с коллегами в своих исследованиях сравнивали воздействие наночастиц Pt, Au и AuPt на следующие микроорганизмы: *Escherichia coli* (*E.coli*), множественно-лекарственно-устойчивую форму *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, и *Salmonella choleraesuis*. Исследования показали, что чистые НЧ Au или чистые НЧ Pt сами по себе не являются антибиотиками и, кроме того, не оказывают негативного воздействия на организм млекопитающих. Антибиотические механизмы комплекса НЧ AuPt включают разрыв внутренней бактериальной мембраны (что нарушает целостность бактерий) и увеличение внутриклеточных уровней АТФ, но не включают в себя генерацию активных форм кислорода [45].

В исследованиях Луцаевой И.В. и Моргалёва Ю.Н. было исследовано влияние наночастиц платины на процессы азотфиксации и нитрификации в дерново-подзолистой, серой слабоаэрированной, серо-гумусовой и в тёмно-серой почвах. Результаты опыта показали, что наночастицы платины в гумусовых горизонтах почв подтайги оказывают не одинаковое влияние на процессы азотфиксации и нитрификации разных пахотных горизонтов. Кроме того, было установлено, что водные дисперсии в концентрации 2,5 мг/л приводят к снижению общего микробного числа во всех гумусовых горизонтах, а также подавлению процессов азотфиксации и нитрификации в суглинистых горизонтах [46].

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данная магистерская диссертация призвана рассмотреть вероятное негативное воздействие наночастиц платины и оксида цинка на микробиологическую активность почвы, а также определить тип опасности почв, загрязнённых такими наночастицами.

Оценка влияния наноматериалов на интенсивность биохимических процессов почвы включает в себя изучение биологической активности почвы. В качестве объектов исследования будут рассмотрены следующие интегральные показатели биологической активности почвы, важные для почв сельскохозяйственного назначения:

- а) общая микробная численность (ОМЧ);
- б) динамика азота в почве (азотфиксация) на примере микроорганизмов вида *Azotobacter*;
- в) динамика нитратов в почве (нитрификация).

Для анализа были отобраны пробы почв двух типов: серые лесные и тёмно-серые лесные. Для каждого типа почвы определяли по три показателя микробиологической активности, для каждого из которых определено количество посевов и разведений почвенной суспензии:

- а) для подсчёта ОМЧ посев осуществляют из трёх последовательных разведений ($1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$) для каждого типа почв, из каждого разведения засевают по три параллельных чашки;
- б) для определения азотобактера для каждого из образцов почвы необходимо произвести посев на три чашки Петри;
- в) для обнаружения нитрификаторов для каждого типа почв готовят почвенную суспензию различных разведений ($1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$, $1:10^6$) по 4 пробирки каждого разведения.

Проведение работ по определению влияния почвы, обработанной раствором наноматериалов, на интегральные показатели биологической активности почв соответствуют методике определения токсичности почв по

биологической активности почв, описанной в Методических указаниях МУ 2.1.7.730-99 «Почва, очистка населённых мест, бытовые и промышленные отходы, санитарная охрана почвы. Гигиеническая оценка качества почвы населённых мест» [47] и в «Методических указаниях по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве» от 05.08.82 N 2609-82 [48].

2.1 Методика проведения анализа

Азотфиксация – способность микроорганизмов усваивать молекулярный азот. Этим свойством обладают многие микроорганизмы, свободно живущие в почве. Виды *Azotobacter* относятся к числу наиболее активных азотфиксаторов.

Нитрификация – окисление аммиака до азотной кислоты, в процессе которого микроорганизмы получают энергию для своей жизнедеятельности. Микроскопически микроорганизмы – нитрификаторы не идентифицируются, а обнаруживаются по изменениям, производимым ими в питательных средах. Для обнаружения нитрификаторов в почве используют среду Виноградского. Нитриты обнаруживаются по красному окрашиванию с испытуемым раствором реактива Грисса (уксуснокислый раствор смеси сульфаниловой кислоты с α -нафтиламином).

Для определения негативного воздействия наночастиц платины и оксида цинка проводится учёт сапрофитных, нитрифицирующих бактерий и азотобактера в почве, обработанной растворами наноматериалов.

2.1.1 Подготовка и внесение исходной дисперсной системы ВДМ в почву

Суспензию наночастиц готовят заранее, добавляя навеску нанопорошка (не более 50 мг) в дисперсионную среду. Достижение равной по всему объёму сосуда мутности обеспечивается при помощи ультразвукового диспергирования полученной смеси [49].

В рассматриваемом нами опыте средний размер нано-ZnO $\Delta_{50} = 20$ нм, нано-Pt $\Delta_{50} = 6$ нм.

Внесение дисперсной системы в пробы почвы осуществлялось в лабораторных условиях. Такой вариант позволяет оперативно оценить токсичность испытуемых высокодисперсных материалов (ВДМ) на почвенную микрофлору. Суть лабораторного способа заключается в пропускании суспензии тестируемых ВДМ объемом, равным годовой норме осадков, через фильтрационную колонку, наполненную высушенным материалом почвенных горизонтов с параметрами подобранными под задачи теста. Для проведения расчётов используются концентрации ВДМ в суспензии при входе в колонку и в элюате, на выходе из неё.

Для того чтобы тест был достоверным, должны выполняться следующие условия [49]:

1. концентрация суспензии наночастиц должна соответствовать наибольшей устойчивости дисперсной системы;
2. суспензия наночастиц должна быть свежеприготовленной;
3. фильтрационные колонки должны содержать горизонты ненарушенного сложения, либо, при невозможности их отбора, засыпаться и уплотняться до естественной плотности горизонта;
4. опытные колонки должны дублироваться контрольными, через которые пропускают дистиллированную воду.
5. суспензию наночастиц необходимо проливать через колонку с почвой, доведенной до состояния гигроскопической влажности;
6. суспензия должна быть пропущена однократно с соблюдением постоянного столба воды, дабы избежать побочных эффектов при реорганизации порового пространства, что вызывается оглеением при длительном переувлажнении и сжатием/набуханием при непостоянстве потока суспензии.

2.1.2 Проведение микробиологического анализа

Пробу почвы из пакета выкладывают на стерильную полиэтиленовую плёнку, тщательно перемешивают шпателем, удаляя при этом посторонние включения (камни, стекла и т.д.), разравнивают тонким слоем и из разных мест отбирают 10 г анализируемой пробы. Анализируемую пробу переносят в колбу со 100 см^3 стерильной водопроводной воды. Параллельно отбирают анализируемые пробы для определения влажности в металлические или стеклянные бюксы. Колбы с почвой помещают на механическую качалку и встряхивают в течение 15 мин. По окончании встряхивания приступают к проведению микробиологического анализа, который включает: приготовление разведений, проведение посева и учёт количества колоний или пробирок, с признаками роста микроорганизмов.

Разведение готовят в стерильной водопроводной воде или в физиологическом растворе (0,85 %-ный раствор NaCl), используя постоянный коэффициент разведения, чаще всего равный 10. Разведение осуществляют в ряде пробирок, содержащих по 9 см^3 воды.

Количество разведений подбирается опытным путём с учётом типа почвы. Колбу с суспензией встряхивают и оставляют на 30 сек. для оседания крупных частиц. Стерильной пипеткой отбирают 1 см^3 суспензии (не прикасаясь ко дну колбы), переносят её в пробирку с водой (9 см^3). Суспензию в первой пробирке тщательно перемешивают другой стерильной пипеткой, для чего в пипетку забирают и вновь возвращают в пробирку её содержимое. Данная операция по перемешиванию суспензии микроорганизмов повторяется не менее 10 раз. Аналогичным образом готовят все последующие разведения, 1 см^3 суспензии в колбе соответствует разведению 10^{-1} (1:10), в первой пробирке – 10^{-2} (1:100) и так далее. Пробирки и колбы обычно подписывают заранее двумя цифрами, написанными одна под другой. Верхняя цифра обозначает номер образца, нижняя - степень разведения (рисунок 2.1) [49].

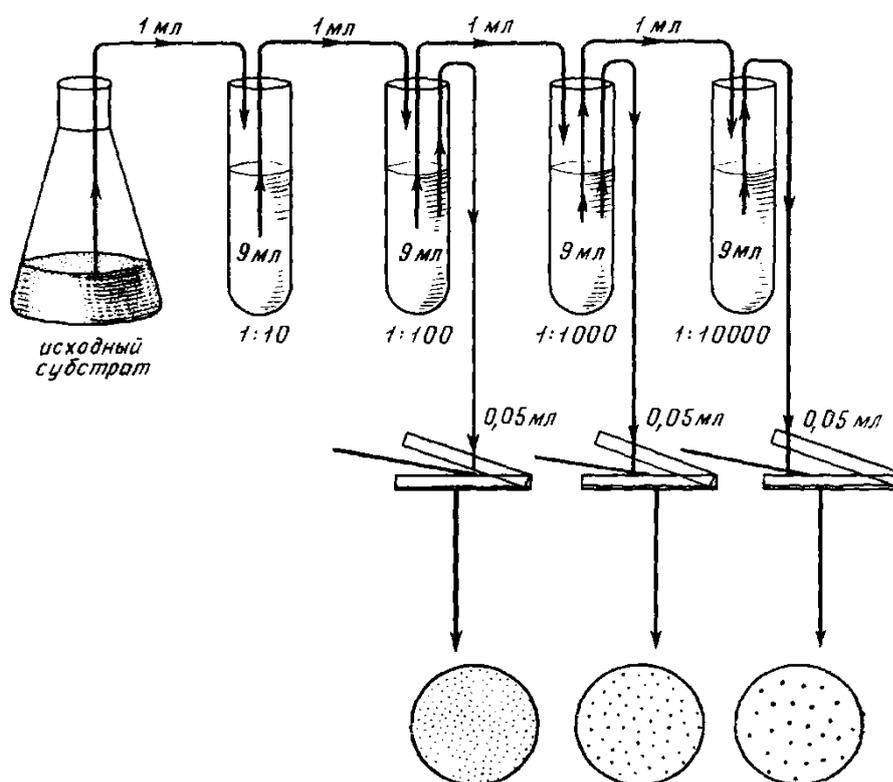


Рисунок 2.1 – Схема приготовления разведений и посева суспензии микроорганизмов шпателем [49]

При планировании посева на большое количество питательных сред 9 см^3 суспензии будет недостаточно. В этом случае ряд разведений готовят в колбах вместимостью 250 см^3 с 90 см^3 стерильной водопроводной воды. Из первой и последующих колб берут по 10 см^3 суспензии. Для приготовления каждого разведения используют новую пипетку. Колбы встряхивают 1 мин [49].

Высевают суспензию поверхностным или глубинным способом на плотные и жидкие питательные среды. Посев проводят в боксах, ламинарных шкафах, оборудованных ультрафиолетовыми лампами, с соблюдением условий асептики.

Для определения численности микроорганизмов в почве проводят высев методом Коха на мясо-пептонный агар (МПА) или его аналоги. МПА – богатая питательными веществами среда, на которой развиваются микроорганизмы различных систематических и физиологических групп. Расплавленную и охлаждённую до температуры $45 \text{ }^\circ\text{C} - 50 \text{ }^\circ\text{C}$ агаризованную среду разливают в чашки Петри по $15-20 \text{ см}^3$ в каждую. Чашки должны

находиться на горизонтальной поверхности, чтобы получился ровный слой застывшей среды. Чашки помещают в предварительно протёртый 70 %-ным этиловым спиртом и нагретый до температуры 65–70 °С сушильный шкаф на 15–20 мин. В сушильном шкафу чашки Петри переворачивают вверх дном, открывают и ставят под углом 45 ° на крышку и подсушивают для удаления конденсационной воды до появления муарового рисунка на поверхности среды. Развившиеся колонии микроорганизмов на таких чашках не расплываются и не сольются друг с другом [49].

Тщательно перемешав суспензию в пробирке или бутылке, стерильной пипеткой на поверхность среды наносят точно измеренный объем (0,05 см³) соответствующего разведения, затем быстро и тщательно растирают его стерильным стеклянным шпателем по всей поверхности среды. Посев делают из почвенной суспензии разведений 1:10⁴, 1:10⁵, 1:10⁶. Объём посевного материала – 0,1 мл. Каждое разведение высевают трижды. После посева чашки переворачивают крышками вниз и инкубируют посеvy в течении 3 – 5 дней в термостате при 28 °С [49].

Для обнаружения *азотобактера* методом почвенных комочков навеску почвы (60 – 100 г) увлажняют стерильной водопроводной водой до пастообразного состояния и микробиологической петлёй или иглой раскладывают комочки правильными рядами (50 комочков на каждую чашку Петри) на среду Эшби следующего состава (г/л): K₂HPO₄ – 0,2; MgSO₄ · 7H₂O – 0,2; NaCl – 0,2; KH₂PO₄ – 0,1; CaCO₃ – 5,0; маннит – 20,0; агар – 20,0; вода дистиллированная – до 1 дм³. Среду стерилизуют при 112 °С 30 минут. На каждый образец почвы используют три чашки Петри, которые помещают в термостат во влажной камере. Через 4–6 суток подсчитывают количество комочков почвы, обросших слизистыми колониями азотобактера (обязателен микроскопический контроль), и вычисляют процент обрастания [49].

Для обнаружения *нитрифицирующих* организмов в почве используют метод накопительной культуры. Опыт проводят на среде Виноградского следующего состава (г/л): (NH₄)₂SO₄ – 2,0; K₂HPO₄ – 1,0; MgSO₄ – 0,5; FeSO₄

– 0,4; NaCl – 2,0, вода водопроводная – до 1 дм³. Среду стерилизуют при 112 °С 30 минут. Разливают среду в пробирки, высота слоя среды должна быть не более 1,5–2,0 см. В каждую пробирку вносят небольшое количество мела. Среду стерилизуют, затем засевают почвенной суспензией различных разведений (1:10², 1:10³, 1:10⁴, 1:10⁵, 1:10⁶) по 4 пробирки каждого разведения. Контролем служат пробирки со средой без внесения почвенной суспензии. Инкубация продолжается 14 дней в термостате при 28 °С. О развитии нитрификаторов судят по появлению в среде нитритов, которые определяют по качественной реакции с реактивом Грисса. Появление красного окрашивания при добавлении к среде реактива Грисса свидетельствует о присутствии нитритов [49].

2.2 Обработка и интерпретация данных

После инкубирования посевов на чашках Петри проводится подсчёт выросших колоний и рассчитываются наиболее вероятное число микроорганизмов в 1 г абсолютно сухой почвы при $P_{0,95}$.

Численность нитрифицирующих бактерий в почве определяют методом предельных разведений. Наиболее вероятное количество клеток в единице объёма определяют по таблицам Мак-Креди. Угнетение азотфиксации определяют по проценту комочков, давших рост азотобактера, в сравнении с контролем.

Согласно критериям отнесения отходов к классам опасности, предложенным в «Санитарных правилах по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления. СП 2.1.7.1386-03» [50], определяют четыре типа опасности: чрезвычайно опасные, высокоопасные, умеренно опасные и малоопасные. К микробиологическим критериям, согласно данной методике, относятся проценты подавления роста азотобактера и процессов биологической активности почв. Так, почву можно считать «незагрязнённой» по показателям биологической активности, при изменениях в микробиологических показателях не более 50 % по сравнению

с теми же показателями для контрольных, принятых в качестве чистых, незагрязнённых почв (таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Критерии отнесения коллоидов к классам опасности (по [50])

	Чрезвычайно опасные	Высоко опасные	Умеренно опасные	Малоопасные
Азотобактер (% подавления)	>90	>75-90	>50-75	25-50
Процессы биологической активности почвы (% подавления)	>75	75-50	50-25	25-50

Ниже будут приведены результаты лабораторных исследований по определению воздействия суспензии наночастиц оксида цинка и платины на микробиологическую активность в образцах серых лесных и тёмно-серых лесных почв.

3 РАСЧЁТЫ И АНАЛИТИКА

3.1 Анализ почвы, контаминированной наночастицами оксида цинка, по показателям биологической активности

На изменения в окружающей среде почвенная микробиота реагирует остро. В первую очередь происходят изменения численности микроорганизмов в почве: это может быть как подавление, так и стимуляция численности микроорганизмов, что ведёт к нарушению естественного баланса почвенного микробного сообщества. В наших исследованиях почву (гумусовый горизонт серой и тёмно-серой почв) проливали водной дисперсной системой наночастиц в концентрации 30 мг/л. Средний размер нано ZnO $\Delta_{50} = 20$ нм.

Определение общей микробной численности в изучаемых образцах почв показало, что сразу после обработки почв водной дисперсией наночастиц ZnO происходит снижение количества колониеобразующих единиц (КОЕ) (таблица 3.1) по сравнению с контрольным образцом в зависимости от типа почвы. Для серой лесной почвы этот показатель составляет 53,1 %, а для тёмно-серой – 51,3 %.

Было проверено влияние наночастиц на микробное сообщество в длительном воздействии. Образцы почвы (массой 200 г) хранились в пакетах при комнатной температуре в течение 2 недель. По истечении срока хранения был проведён микробиологический анализ образцов. В контрольных образцах происходит снижение количества КОЕ. В почве, обработанной суспензией наночастиц оксида цинка, отмечено увеличение количества КОЕ для изученных образцов почв (таблица 3.1), по сравнению с теми же показателями в первый день: для серой лесной почвы показатель вырос почти в 1,3 раза, для тёмно-серой лесной – почти в 1,5 раза. Рисунок 3.1 позволяет наглядно проследить за вышеописанными изменениями.

Таблица 3.1 – Общее микробное число в образцах почвы, контаминированной наночастицами оксида цинка

	Количество микроорганизмов, млн. КОЕ/г абс. сухой почвы			
	Серая лесная почва		Тёмно-серая лесная почва	
	0 дней	14 дней	0 дней	14 дней
Контроль (нативная почва)	70,2 ± 0,006	29,9 ± 0,004	107,8 ± 0,007	31,3 ± 0,004
Почва + наночастицы ZnO	32,9 ± 0,012	42,3 ± 0,008	52,5 ± 0,007	76,4 ± 0,009

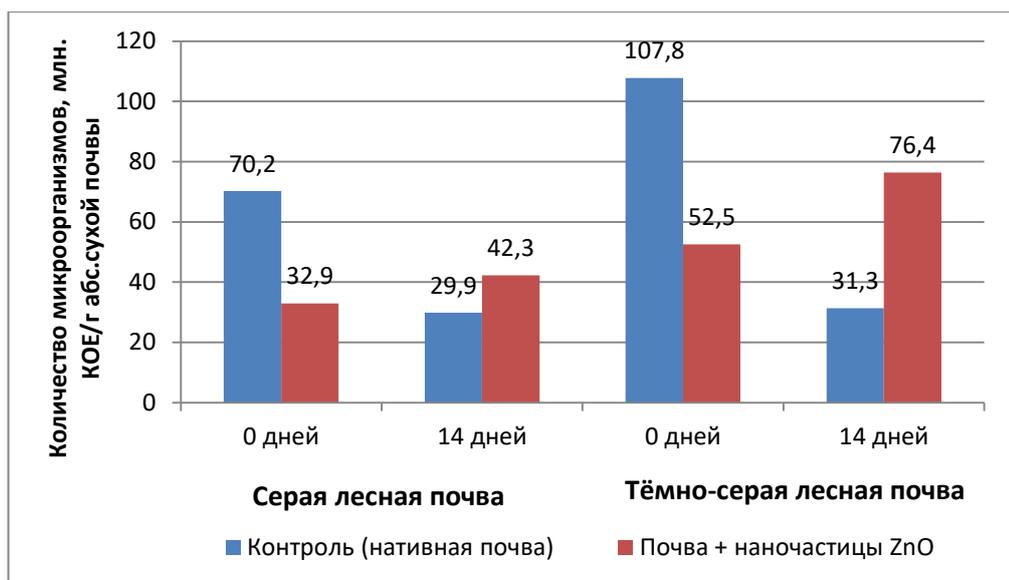


Рисунок 3.1 – Общее микробное число в образцах почвы, контаминированной наночастицами оксида цинка

В таблице 3.2 приведены данные по содержанию спорных и пигментных бактерий в контрольных и опытных образцах. Бациллы ведут себя по-разному в зависимости от типа почвы.

Так, в серой почве, обработанной наночастицами оксида цинка, при посеве в день обработки почвы, количество спорных грамположительных бактерий всего на 1,67 % больше, чем в контрольном образце, а через 2 недели хранения почвы отмечено значительное снижение количества спорных КОЕ в опытном образце и значительное увеличение их в контроле. В тёмно-серой почве наблюдается снижение количества бацилл в день обработки почвы наночастицами оксида цинка на 27,2 % по сравнению с контролем, а после хранения отмечено увеличение бацилл в опытном образце более чем в 2 раза от первоначального значения (в контроле увеличение

незначительное) и, по сравнению с контролем, количество бактерий выросло на 47,01 %.

Также отмечается снижение пигментных форм бактерий под влиянием наночастиц оксида цинка. Количество пигментных бактерий в опытных образцах серой и тёмно-серой почв снижается на 88,9 и 59,6 % соответственно. После хранения снижение КОЕ происходит и в контроле, и в опытных образцах. В серой лесной почве пигментные бактерии не высевались вовсе, а в тёмно-серой происходит снижение их количества по сравнению с контролем на 82,1 %. Пигменты защищают бактерии от воздействия света и ультрафиолетового облучения. Существует тесная корреляция между пигментацией и образованием вторичных метаболитов, которые играют важную роль в жизни почвенных организмов. Такое влияние наночастиц оксида цинка на пигментные бактерии ведёт к нарушению почвенного микробиоценоза. Вышеописанные замечания наглядно отражены на рисунках 3.2 – 3.3.

Таблица 3.2 – Споровые и пигментные бактерии образцах почвы, контаминированной наночастицами оксида цинка

Образец	Группы микроорганизмов, % от КОЕ			
	Споровые		Пигментные	
	0 дней	14 дней	0 дней	14 дней
Серая лесная почва				
Контроль (нативная почва)	12,34	26,08	28,39	8,69
Почва + наночастицы ZnO	12,55	8,45	3,16	0
Тёмно-серая лесная почва				
Контроль (нативная почва)	18,79	21,88	19,39	6,25
Почва + наночастицы ZnO	13,68	32,17	7,83	1,12

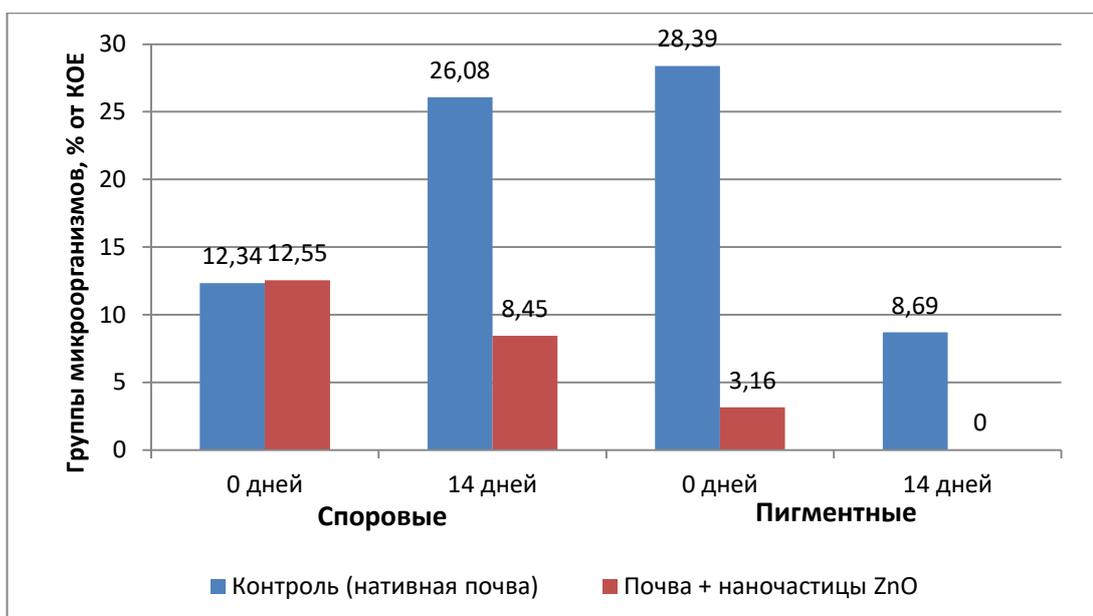


Рисунок 3.2 – Споровые и пигментные бактерии в образцах серой лесной почвы, контаминированной наночастицами оксида цинка

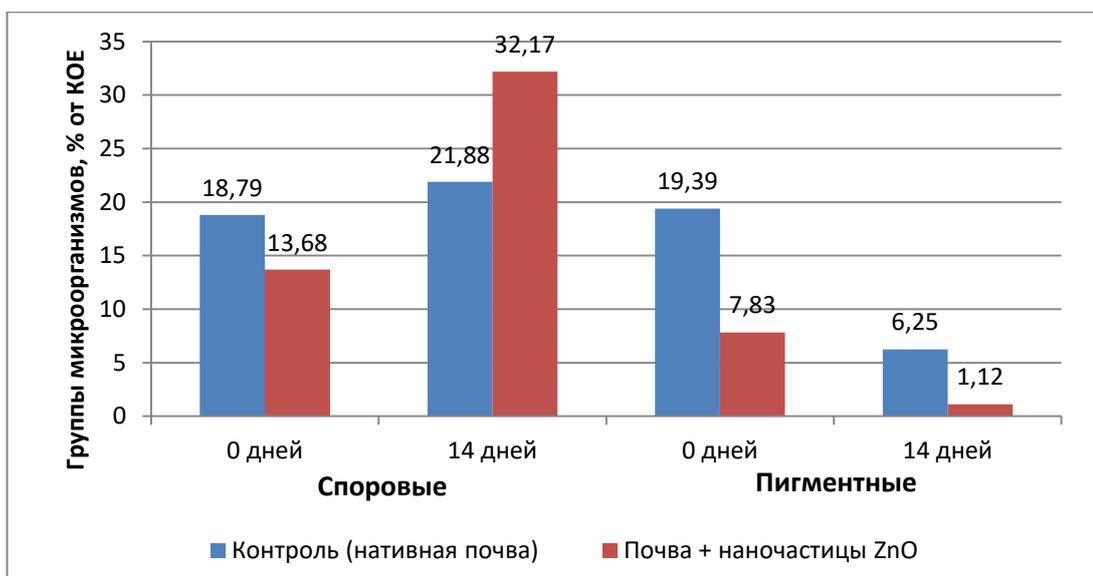


Рисунок 3.3 – Споровые и пигментные бактерии образцах тёмно-серой лесной почвы, контаминированной наночастицами оксида цинка

Активность азотфиксации используется для ранней диагностики загрязнения почв токсическими веществами. Этот показатель также может быть информативен при оценке реакции микробоценоза почвы на внесение растворов наноматериалов. Для обнаружения в почве азотобактера используют метод «комочков обрастания» Виноградского. Данные, представленные в таблице 3.3, показывают подавление роста азотобактера в образцах почв, исследованных в день обработки и после 14 дней хранения.

Если зафиксированное в первый день подавление роста азотобактера на 32,47 % в серой почве и на 17,76 % в тёмно-серой, что, согласно СП 2.1.7.1386-03, считается малоопасным, то после хранения такие почвы можно отнести к классу чрезвычайно опасных, поскольку наночастицы оксида цинка полностью подавляют рост азотобактер. В контрольных образцах азотобактер присутствует.

Таблица 3.3 – Процент подавления роста азотобактера почв, обработанной суспензией наночастиц оксида цинка

Образец	Процент подавления роста азотобактера в сравнении с контролем	Класс опасности (по СП 2.1.7.1386-03 [50])
0 дней		
Серая	32,47	Малоопасные
Тёмно-серая	17,76	Малоопасные
14 дней		
Серая	100	Чрезвычайно опасные
Тёмно-серая	100	Чрезвычайно опасные

В образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц оксида цинка, были изучены процессы нитрификации. В изученных почвах, обработанных наночастицами оксида цинка, в первый день наблюдения отмечено снижение количества клеток нитрифицирующих микроорганизмов на 44 % в сравнении с контролем. Через 14 дней хранения образцов почвы был повторен посев на определение численности нитрификаторов (таблица 3.4). Как видно из таблицы, количество нитрификаторов упало в контрольных образцах, в серой почве нитрификаторы выявлены не были, а в темно-серой почве количество нитрификаторов снизилось лишь на 16,7 %. Таким образом, в образцах почвы, обработанной НЧ оксида цинка, отмечено снижение количества нитрифицирующих бактерий в сравнении с контролем более чем в 2 раза, что согласно СП 2.1.7.1386-03 относится к высокоопасному влиянию.

Изменение процесса нитрификации в рассматриваемых почвах при рассматриваемых условиях наглядно отображено на рисунке 3.4.

Таблица 3.4 – Нитрификация в почвах, обработанных наночастицами оксида цинка

Образец	Наиболее вероятное число клеток микроорганизмов в 1 г почвы	Процент подавления нитрификации в сравнении с контролем	Класс опасности (по СП 2.1.7.1386-03 [50])
0 дней			
Контроль (серая почва)	$2,5 \times 10^5$		
Серая почва + наночастицы ZnO	$1,1 \times 10^5$	56	Высокоопасные
Контроль (темно-серая почва)	$2,5 \times 10^5$		
Темно-серая почва + наночастицы ZnO	$1,15 \times 10^5$	54	Высокоопасные
14 дней			
Контроль (серая почва)	$6,0 \times 10^3$		
Серая почва + наночастицы ZnO	0	100	Чрезвычайно опасные
Контроль (темно-серая почва)	$6,0 \times 10^3$		
Темно-серая почва + наночастицы ZnO	$5,0 \times 10^3$	16,7	Не опасные

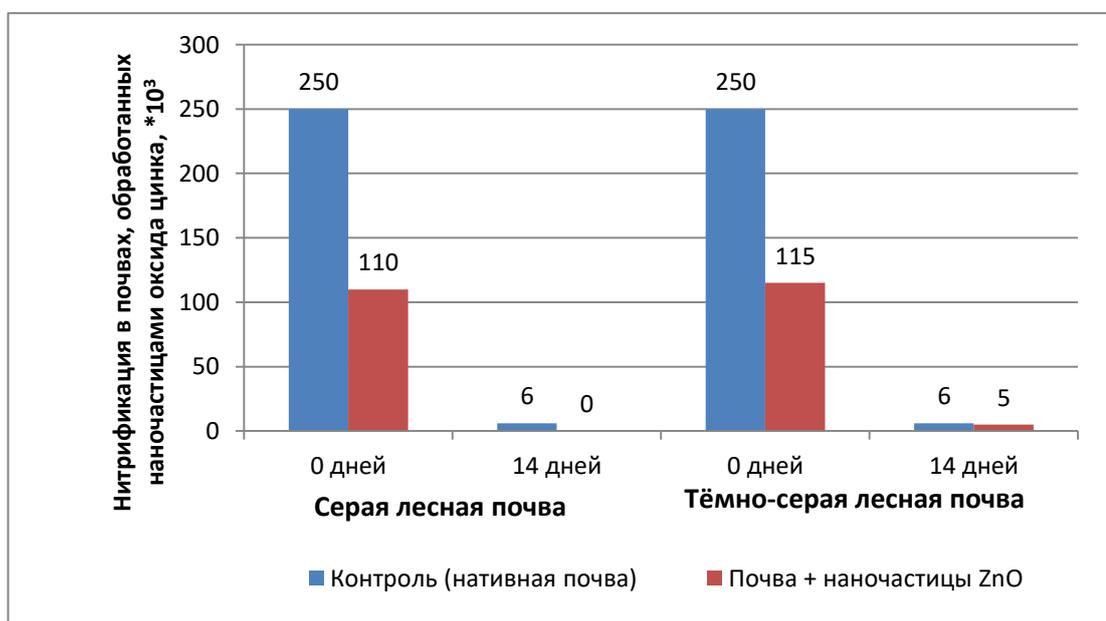


Рисунок 3.4 – Нитрификация в почвах, обработанных наночастицами оксида цинка

Таким образом, в данной главе было рассмотрено влияние нано-ZnO на рост общего микробного числа, спорных и пигментных бактерий, а также на рост азотобактера и нитрифицирующих микроорганизмов.

3.2 Анализ почвы, обработанной раствором наночастиц платины, по показателям биологической активности

В данных исследования почву (гумусовый горизонт серой лесной среднесуглинистой и тёмно-серой лесной среднесуглинистой почв) проливали водной дисперсной системой наночастиц платины в концентрации 20 мг/л. Содержание наночастиц платины в обработанной почве составило 1,31 мг/кг в серой почве и 1,64 мг/кг в тёмно-серой почве. Средний размер нано-Pt $\Delta_{50} = 6$ нм.

В изучаемых образцах почв определялась общая микробная численность. Опыт показал, что микрофлора серой и тёмно-серой почв по-разному реагирует на присутствие наночастиц платины. Так, после обработки серой почвы водной дисперсией наночастиц платины происходит снижение КОЕ (таблица 3.5) по сравнению с контролем на 57,5 %. А в тёмно-серой почве, наоборот, отмечено увеличение количества КОЕ в 4,19 раза.

Через 14 дней хранения образцов почвы при комнатных условиях был проведён повторный посев образцов. В контрольной почве произошло снижение количества КОЕ на 57,4 % в серой почве и на 71,0 % в тёмно-серой почве (таблица 3.5). В опытных образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины, отмечено увеличение количества КОЕ для серой почвы в 1,4 раза, причём численность микроорганизмов превысила аналогичный показатель в контрольной пробе. В тёмно-серой почве в опытном образце отмечено снижение численности в 8,5 раз по сравнению с измерениями в первый день обработки почвы, однако показатель всё равно превышает аналогичный в контрольной пробе.

Изменение общего микробного числа в рассматриваемых образцах почвы при рассматриваемых условиях наглядно отображено на рисунке 3.5.

Таблица 3.5 – Общее микробное число в образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины

	Количество микроорганизмов, млн КОЕ/г абс.сухой почвы			
	Серая		Тёмно-серая	
	0 дней	14 дней	0 дней	14 дней
Контроль (нативная почва)	70,2 ± 0,006	29,9 ± 0,004	107,8 ± 0,007	31,3 ± 0,004
Почва + наночастицы Pt	29,8 ± 0,008	42,5 ± 0,005	451,2 ± 0,018	53,1 ± 0,005

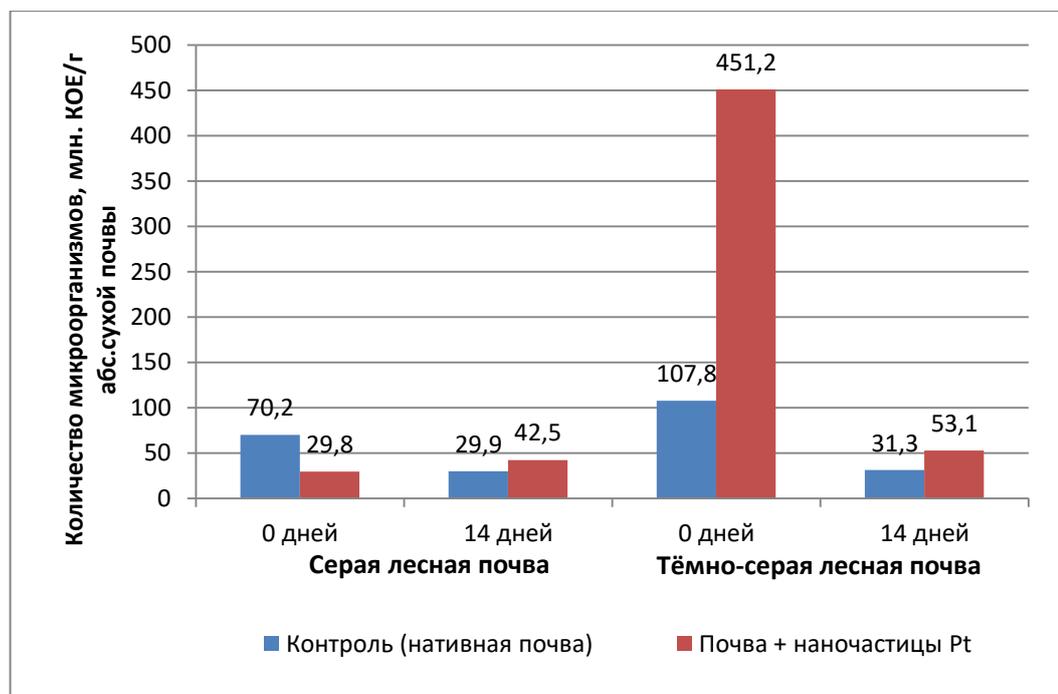


Рисунок 3.5 – Общее микробное число в образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины

В таблице 3.6 приведены данные по содержанию спорных и пигментных бактерий в контрольных и опытных образцах почвы. В опытных образцах при посеве в день обработки почвы, отмечается рост спорных форм на 32,6 % в серой почве и небольшое снижение (на 8,2 %) в тёмно-серой почве по сравнению с контрольными образцами. Через 2 недели хранения почвы зафиксировано значительное увеличение (в 3 раза) количества спорных КОЕ в контроле для серой почвы и небольшое увеличение (на 16,44 %) для тёмно-серой почвы. В опытных образцах тоже отмечено увеличение количества спорных бактерий на 23,1% в серой и на 16,6 % в тёмно-серой почве, но их количество стало ниже, чем в контроле.

Количество пигментных бактерий в опытных образцах серой и тёмно-серой почв снижено на 32,9 и 84,6 % соответственно. После хранения снижение КОЕ происходит и в контроле и в опытных образцах – в серой почве пигментные бактерии не высевались, а в тёмно-серой происходит незначительный рост их количества, но по сравнению с контролем этот показатель меньше на 40,2 %.

Таблица 3.6 – Споровые и пигментные бактерии образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины

Образец	Группы микроорганизмов, % от КОЕ			
	Споровые		Пигментные	
	0 дней	14 дней	0 дней	14 дней
	Серая			
Контроль (нативная почва)	8,64	26,08	28,39	8,69
Почва + наночастицы Pt	11,46	14,11	19,05	0
Тёмно-серая				
Контроль (нативная почва)	18,79	21,88	19,39	6,25
Почва + наночастицы Pt	17,25	20,12	2,98	3,74

Изменение числа споровых и пигментных бактерий в рассматриваемых образцах почвы при рассматриваемых условиях наглядно отображено на рисунках 3.6–3.7.

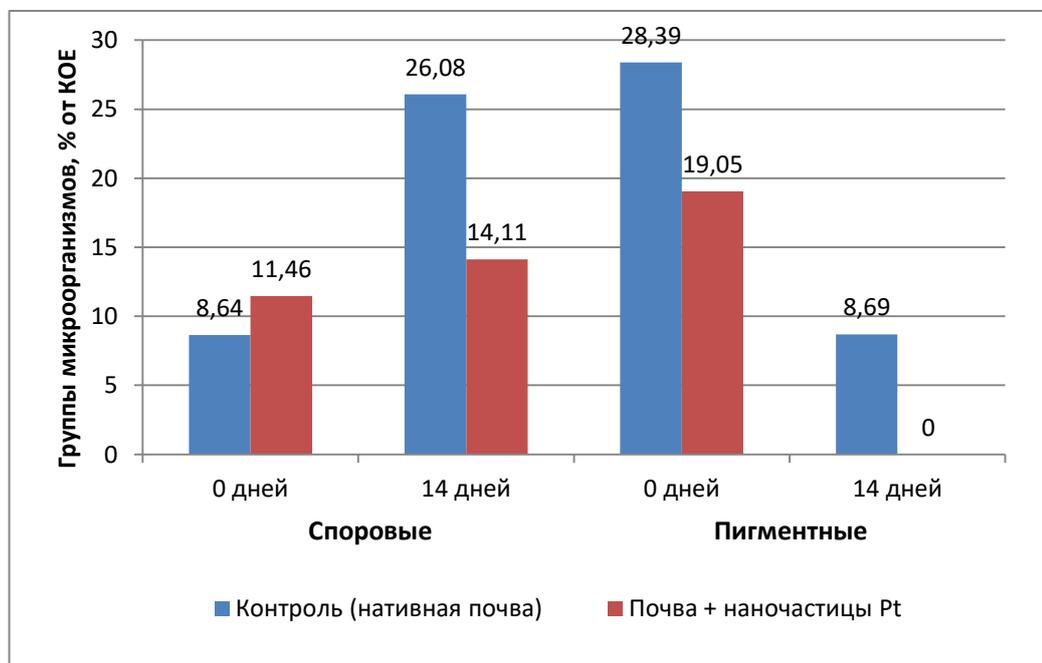


Рисунок 3.6 – Споровые и пигментные бактерии в образцах серой лесной почвы, обработанной суспензией наночастиц платины

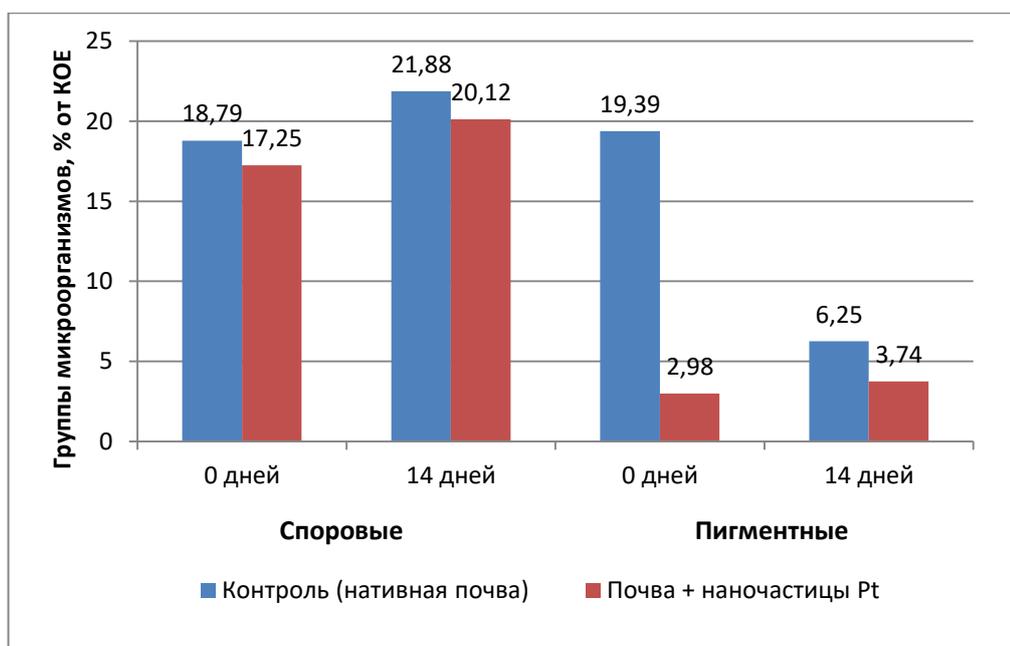


Рисунок 3.7 – Споровые и пигментные бактерии в образцах тёмно-серой лесной почвы, обработанной суспензией наночастиц платины

Данные, представленные в таблице 3.7, показывают подавление роста азотобактера в образцах почв, исследованных в день обработки и после 14 дней хранения. При изучении роста азотобактера в опытных образцах почв в первый день обработки их водной дисперсией наночастиц платины отмечено значительное подавление роста азотобактера на 95,68 % для серых почв и на 96,47 % для тёмно-серых почв, и зафиксировано полное угнетение этой группы микроорганизмов после хранения образцов почвы. Согласно СП 2.1.7.1386-03 такое влияние наночастиц оксида цинка на группу азотфиксаторов относят почву, обработанную нано-Pt, к классу чрезвычайно опасных. В контрольных образцах азотобактер присутствует.

Таблица 3.7 – Процент подавления роста азотобактера почв, обработанной суспензией наночастиц платины

Образец	Процент подавления роста азотобактера в сравнении с контролем	Класс опасности (по СП 2.1.7.1386-03 [50])
0 дней		
Серая	95,68	Чрезвычайно опасные
Темно-серая	96,47	Чрезвычайно опасные
14 дней		
Серая	100	Чрезвычайно опасные

Продолжение таблицы 3.7

Темно-серая	100	Чрезвычайно опасные
-------------	-----	---------------------

В образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины, также были изучены процессы нитрификации. В обработанных образцах в первый день наблюдалось такое же количество нитрификаторов, как и в контроле. Через 14 дней хранения образцов почвы был повторен посев на определение численности нитрификаторов (таблица 3.8). Видим, что количество нитрификаторов упало в контрольных образцах, в серой почве нитрификаторов на 90% меньше в сравнении с контролем, а в тёмно-серой почве количество нитрификаторов превысило аналогичное количество в контрольной пробе в 3 раза.

Таблица 3.8 – Нитрификация в почвах, обработанных наночастицами платины

Образец	Наиболее вероятное число клеток микроорганизмов в 1 г почвы	Процент подавления/стимуляции нитрификации в сравнении с контролем	Класс опасности (по СП 2.1.7.1386-03 [50])
0 дней			
Контроль (серая почва)	$2,5 \times 10^5$		
Серая почва + наночастицы Pt	$2,5 \times 10^5$	0	Не опасные
Контроль (темно-серая почва)	$2,5 \times 10^5$		
Темно-серая почва + наночастицы Pt	$2,5 \times 10^5$	0	Не опасные
14 дней			
Контроль (серая почва)	$6,0 \times 10^3$		
Серая почва + наночастицы Pt	$0,6 \times 10^3$	90	Чрезвычайно опасные
Контроль (темно-серая почва)	$6,0 \times 10^3$		
Темно-серая почва + наночастицы Pt	25×10^3	-316,67	Чрезвычайно опасные

Изменение числа нитрификаторов в рассматриваемых образцах почвы при рассматриваемых условиях наглядно отображено на рисунке 2.8.

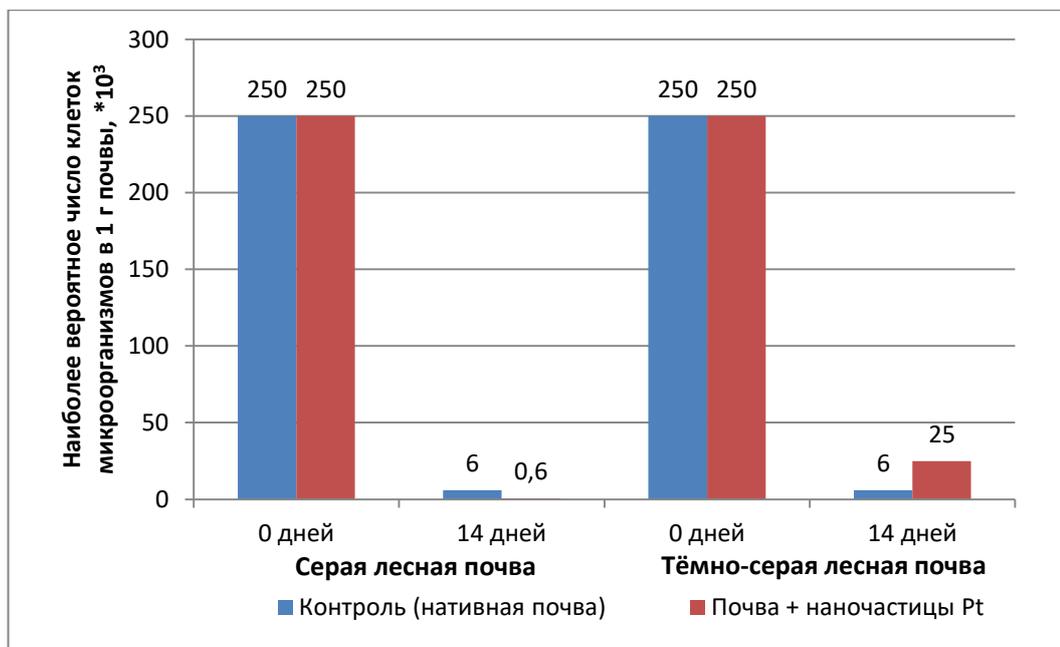


Рисунок 2.8 – Нитрификация в почвах, обработанных наночастицами платины

Таким образом, в данной главе было рассмотрено влияние нано-Pt на рост общего микробного числа, споровых и пигментных бактерий, а также на рост азотобактера и нитрифицирующих микроорганизмов.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЁННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее время существуют противоречивые данные по антибактериальной активности наночастиц ZnO. Многими авторами подчёркивается её сильная зависимость от размера [15, 24] и концентрация наночастиц [22], строения клеточной мембраны (грамположительные и грамотрицательные бактерии) [35, 38]. В работе Collins с соавторами [2] при анализе микробных сообществ почвы с использованием культурно-зависимых (Biolog ecorlates) и независимых методов (FAME анализ и пиросеквенирование) говорится, что наночастицы ZnO изменили структуру микробного сообщества. Показано снижение доли грамположительных бактерий [2], что также показали мы в данных исследованиях для серой лесной почвы. В другой работе показано снижение роста бактерий почвы под влиянием нано-ZnO, но токсичность нано-ZnO ниже, чем у цинка, вносимого в почву в виде раствора ZnSO₄ [4].

В настоящее время данные по влиянию наночастиц платины на почвенное микробное сообщество практически отсутствуют. Имеются сведения о влиянии на чистые культуры бактерий, в основном, на патогенные микроорганизмы. В некоторых работах [34, 35, 37, 38] рассмотрена антимикробная активность наночастиц платины. В работе Konieczny с соавторами [42] указывается на токсичность наночастиц платины для *Escherichia coli* и отсутствие токсического эффекта для *Staphylococcus aureus*. Gopal с соавторами [39] изучал воздействие наночастиц платины разных размеров. Ими отмечено, что токсическим эффектом обладают наночастицы платины малых размеров (1–3 нм), а более крупные частицы (6–18 нм) наоборот, оказывают стимулирующий рост бактериальной культуры эффект.

Наши исследования показали снижение ОМЧ в первый день обработки почвы суспензией нано-ZnO, снижение доли спорных и пигментных бактерий, снижение количества азотобактера (незначительное) и нитрификаторов. Через 14 дней в обработанной почве возрастает ОМЧ по

сравнению с контролем, а также увеличивается доля споровых микроорганизмов более чем в два раза от первоначального значения, значительно снижается рост пигментных бактерий (подавление порядка 80–100 %), наблюдается полное подавление азотфиксации, а также значительное снижение роста микроорганизмов-нитрификаторов в образцах серой лесной почвы.

Влияние нано-Pt на микробное почвенное сообщество неоднозначно и, в том числе, зависит оно и от типа почв. Так, количество КОЕ в первый день обработки почвы суспензией нано-Pt в серых лесных почвах было снижено, по сравнению с контролем, а в тёмно-серых, наоборот, превысило показатель контроля в 4 раза; споровые микроорганизмы в разных почвах ведут себя по-разному: в серых почвах они незначительно превышают контроль, в тёмно-серых их рост, наоборот, снижен; пигментные бактерии угнетены в обоих случаях. Наиболее остро на присутствие в среде нано-Pt остро реагирует азотобактер: в первый же день после внесения его рост снижется на 95–96 %. После хранения в обработанной почве отмечен рост количества КОЕ в серой почве, снижение данного показателя в тёмно-серой почве, однако в обоих случаях количество КОЕ превышало аналогичный показатель в контрольной пробе; количество споровых бактерий возросло в обоих случаях, однако всё равно оказалось ниже контроля; произошло полное подавление пигментных бактерий в серых почвах; рост азотобактера в обоих случаях был полностью подавлен. Влияние на нитрифицирующие бактерии появляется после хранения образцов почвы. При этом в серой почве происходит снижение количества нитрификаторов по сравнению с контролем, а в тёмно-серой, наоборот, значительное увеличение, что в обоих случаях ведёт к изменению структуры микробного сообщества почвы и, в конечном итоге, к нарушениям почвенных процессов.

Таким образом, наночастицы платины и оксида цинка по проценту подавления роста азотобактера можно отнести к чрезвычайно опасным отходам, а почвы, контаминированные ими, к сильно загрязнённым. По

проценту подавления процессов нитрификации, ОМЧ и роста пигментных микроорганизмов такие наночастицы могут быть как высоко опасными, так и чрезвычайно опасными. По проценту подавления роста спорных бактерий такие наночастицы могут оказаться как высоко опасными, так и умеренно опасными. Однако, как определяется в СП 2.1.7.1386-03 [49], в подобных ситуациях необходимо выбирать показатель, соответствующий максимально возможной опасности. Следовательно, исходя из результатов представленного выше исследования, наночастицы платины и оксида цинка относятся к чрезвычайно опасным отходам, а загрязнённые ими почвы относятся к сильно загрязнённым.

5 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ

Целью данной работы является определение типа опасности почвы, контаминированной наночастицами платины и оксида цинка по показателям микробиологической активности (таким, как: общая микробная численность, динамика азота в почве и динамика нитратов в почве).

5.1 Предпроектный анализ

5.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Для анализа потребителей результатов проведённого исследования необходимо проанализировать целевой рынок и провести его сегментирование.

Целевой рынок – сегменты рынка, на котором в будущем станет продаваться разработка.

Сегмент рынка – это особым образом выделенная часть рынка, группы потребителей, обладающих определёнными общими признаками.

Сегментирование – это разделение покупателей на однородные группы, для каждой из которых может потребоваться определённый товар (услуга) [51].

В данном случае сегментирование целесообразно провести по показателям микробиологической активности, которые могут быть определены при помощи одной из нижеприведённых методик.

Также следует выделить следующие сегменты рынка:

- а) сельскохозяйственная промышленность;
- б) научно-исследовательские институты;
- в) предприятия nanoиндустрии.

Исходя из сегмента рынка, будет произведено сегментирование коммерческих организаций по отраслям. Сегментирование приведено в таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Сегментирование рынка

		Показатели микробиологической активности		
		Общая микробная численность	Динамика азота в почве	Динамика нитратов в почве
Отрасли промышленности	Сельскохозяйственная промышленность			
	Научно-исследовательские институты			
	Предприятия nanoиндустрии			

	Метод Мишустина, Вострова и Петровой, 1979		Метод Луцаевой и Моргалёва, 2014
--	--	--	----------------------------------

Метод Луцаевой и Моргалёва. Используемые при проведении лабораторных исследований методические рекомендации определяют порядок оценки токсичности ВДМ для почвенных микроорганизмов и являются модификацией метода определения токсичности почв по биологической активности почв, описанной в «Почва, очистка населённых мест, бытовые и промышленные отходы, санитарная охрана почвы. Гигиеническая оценка качества почвы населённых мест. Методические указания МУ 2.1.7.730-99» и в «Методических указаниях по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве от 05.08.82 N 2609-82». Модифицированный метод предназначен для оценки безопасности ВДМ по изменениям показателей биологической активности почв (общая микробная численность, динамика азота и нитратов в почве (азотфиксация, нитрификация, денитрификация)) [49].

Метод Мишустина, Вострова и Петровой. Данный метод позволяет определить микробиологическую активность почвы по интенсивности разложения целлюлозного полотна. Метод предназначен для определения микробиологической активности на данной территории [52].

5.1.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

Детальный анализ конкурирующих разработок, существующих на рынке, необходимо проводить систематически, поскольку рынки пребывают в постоянном движении. Такой анализ помогает вносить коррективы в научное исследование, чтобы успешнее противостоять своим соперникам. Важно реалистично оценить сильные и слабые стороны разработок конкурентов. Данный анализ проводится с помощью оценочной карты, которая приведена в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		Бф	Бк1	Бк2	Кф	Кк1	Кк2
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Актуальность методики	0,05	5	4	3	0,25	0,2	0,15
2. Спрос на технологию	0,05	2	2	2	0,1	0,1	0,1
3. Эффективность методики	0,2	4	3	3	0,8	0,6	0,6
4. Безопасность	0,2	5	5	5	1	1	1
5. Надёжность	0,05	4	3	4	0,2	0,15	0,2
6. Простота проведения анализа	0,1	3	2	3	0,3	0,2	0,3
Экономические критерии оценки эффективности							
1. Конкурентоспособность разработки	0,05	3	3	3	0,15	0,15	0,15
2. Финансирование на реализацию научной разработки	0,2	2	3	3	0,4	0,6	0,6
3. Цена разработки	0,05	2	2	2	0,1	0,1	0,1
4. Перспективность разработки	0,05	4	3	3	0,2	0,15	0,15
Итого	1				3,5	3,25	3,35

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$K = \sum V_i \times B_i, \quad (5.1)$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

V_i – вес показателя (в долях единицы);

B_i – балл i -го показателя.

После проведённого анализа можно сделать следующие выводы:

Рассматриваемая нами методика, по сравнению с аналогами, более современна, и, соответственно, более надёжна, более актуальна, более

эффективна и, кроме того, более перспективна, по сравнению с устаревшими методиками.

5.1.3 SWOT-анализ

SWOT – Strengths (сильные стороны), Weaknesses (слабые стороны), Opportunities (возможности) и Threats (угрозы) – представляет собой комплексный анализ научно-исследовательского проекта. SWOT-анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта.

SWOT-анализ проводится в несколько этапов.

Первый этап заключается в описании сильных и слабых сторон проекта, в выявлении возможностей и угроз для реализации проекта, которые проявились или могут появиться в его внешней среде. Для этого составляется матрица SWOT, в которой описаны сильные и слабые стороны научно-исследовательского проекта, а также его возможности и угрозы (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Матрица SWOT

	<p>Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Актуальность проекта; С2. Снижение вреда для окружающей среды; С3. Комплексность используемой методики; С4. Квалифицированный персонал.</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Недостаточная изученность темы проекта; Сл2. Высокие цены на оборудование; Сл3. Нет финансирования для реализации проекта; Сл4. Отсутствие у потенциальных потребителей квалифицированных кадров по работе с научной разработкой.</p>
<p>Возможности: В1. Широкая область применения; В2. Финансирование и реализация проекта; В3. Появление спроса со стороны организаций, предоставляющих услуги мониторинга.</p>		

Продолжение таблицы 5.3

<p>Угрозы: У1. Несвоевременное финансовое обеспечение научного исследования со стороны государства; У2. Отсутствие спроса на новые технологии; У3. Загрязнение окружающей среды вследствие несоблюдения техники безопасности.</p>		
---	--	--

Второй этап состоит в выявлении соответствия сильных и слабых сторон научно-исследовательского проекта внешним условиям окружающей среды. Это соответствие или несоответствие должны помочь выявить степень необходимости проведения стратегических изменений. Интерактивная матрица рассматриваемого проекта представлена в таблице 5.4.

Таблица 5.4 – Интерактивная матрица научно-исследовательского проекта

		Сильные стороны проекта				Слабые стороны проекта			
Возможности проекта		C1	C2	C3	C4	Сл1	Сл2	Сл3	Сл4
	B1	+	–	+	–	+	–	0	+
	B2	+	+	+	–	+	+	0	+
	B3	+	+	+	–	+	+	–	+
Угрозы	У1	–	–	–	0	+	–	0	–
	У2	0	–	–	–	+	–	+	–
	У3	0	+	–	–	0	–	–	+

В рамках третьего этапа составляется итоговая матрица SWOT-анализа научно-исследовательского проекта (таблица 5.5), в которой отражена корреляция возможностей и угроз с сильными и слабыми сторонами проекта.

Таблица 5.5 – Итоговая матрица SWOT

	<p>Сильные стороны научно-исследовательского проекта: С1. Актуальность проекта; С2. Снижение вреда для окружающей среды; С3. Комплексность используемой методики; С4. Квалифицированный персонал.</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта: Сл1. Недостаточная изученность темы проекта; Сл2. Высокие цены на оборудование; Сл3. Нет финансирования для реализации проекта; Сл4. Отсутствие у потенциальных потребителей квалифицированных кадров по работе с научной разработкой.</p>
<p>Возможности: В1. Широкая область применения; В2. Финансирование и реализация проекта; В3. Появление спроса со стороны организаций, предоставляющих услуги мониторинга.</p>	<p>В1В2В3С1С3, В2В3С2. Актуальность проекта и комплексность используемой методики позволяют расширить область его применения, привлечь дополнительное финансирование для реализации и способствуют повышению спроса со стороны организаций, предоставляющих услуги мониторинга. Снижение вреда для окружающей среды, в первую очередь, привлечёт спрос со стороны организаций, предоставляющих услуги мониторинга и дополнительное финансирование.</p>	<p>В1В2В3Сл1Сл4, В2В3Сл2 Недостаточная изученность темы проекта и отсутствие у потенциальных клиентов квалифицированных кадров могут негативно повлиять на область применения исследования, снизить возможность финансирования, а также снизить спрос на технологию. Высокие цены на оборудование могут отпугнуть потенциальных желающих профинансировать проект, а также могут снизить спрос от заинтересованных организаций.</p>
<p>Угрозы: У1. Несвоевременное финансовое обеспечение научного исследования со стороны государства; У2. Отсутствие спроса на новые технологии; У3. Загрязнение окружающей среды вследствие несоблюдения техники безопасности.</p>	<p>У3С2. Несоблюдение строгой техники безопасности по работе с мелкодисперсными частицами может привести к загрязнению окружающей среды или поражению персонала, работающего с мелкодисперсными частицами, что идёт вразрез с одной из самых важных сильных сторон проекта – потенциальным снижением вреда для окружающей среды.</p>	<p>У1У2Сл1Сл3, У3Сл4. Недостаточная изученность темы исследования, а также отсутствие финансирования могут повлечь за собой отсутствие спроса на данную технологию. Недостаточно квалифицированные кадры, не соблюдающие технику безопасности, могут произвести загрязнение окружающей среды наночастицами.</p>

Результаты проведённого SWOT-анализа будут учтены при разработке структуры работ, выполняемых в рамках научно-исследовательского проекта.

5.1.4 Степень готовности проекта к коммерциализации

На какой бы стадии жизненного цикла не находилась научная разработка полезно оценить степень её готовности к коммерциализации и выяснить уровень собственных знаний для её проведения (или завершения). Для этого была заполнена специальная форма, содержащая показатели о степени проработанности проекта с позиции коммерциализации и компетенциям разработчика научного проекта (таблица 5.6).

Таблица 5.6 – Бланк оценки степени готовности научного проекта к коммерциализации

№ п/п	Наименование	Степень проработанности научного проекта	Уровень имеющихся знаний у разработчика
1.	Определён имеющийся научно-технический задел	4	3
2.	Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического задела	2	2
3.	Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке	2	2
4.	Определена товарная форма научно-технического задела для представления на рынок	1	1
5.	Определены авторы и осуществлена охрана их прав	2	2
6.	Проведена оценка стоимости интеллектуальной собственности	1	1
7.	Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта	1	1
8.	Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки	1	1
9.	Определены пути продвижения научной разработки на рынок	2	2
10.	Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки	2	2
11.	Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок	1	1
12.	Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот	1	1

Продолжение таблицы 5.6

13.	Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной разработки	1	1
14.	Имеется команда для коммерциализации научной разработки	1	1
15.	Проработан механизм реализации научного проекта	2	2
ИТОГО БАЛЛОВ		24	23

Оценка готовности научного проекта к коммерциализации (или уровень имеющихся знаний у разработчика) определяется по формуле:

$$B_{\text{сум}} = \sum B_i, \quad (5.2)$$

где $B_{\text{сум}}$ – суммарное количество баллов по каждому направлению;

B_i – балл по i -му показателю.

Согласно учебно-методическому пособию [51], такое значение $B_{\text{сум}}$ характеризует перспективность научного проекта как перспективность ниже среднего. Причиной этому является короткий срок работы над данным проектом, а также недостаточность общедоступных сведений по данной теме, поскольку исследования по ней на настоящий момент редки. Для продвижения на рынок необходимо разработать бизнес-план для данной работы и осуществить привлечение специалистов для углублённого и всестороннего изучения воздействия наночастиц платины и оксида цинка на почвенную микробиоту.

5.2 Инициация проекта

5.2.1 Цели и результат проекта

Группа процессов инициации состоит из процессов, которые выполняются для определения нового научно-исследовательского проекта или новой фазы существующего. В рамках процессов инициации определяются изначальные цели и содержание, фиксируются изначальные финансовые ресурсы. Определяются внутренние и внешние заинтересованные стороны проекта, которые будут взаимодействовать и влиять на общий результат научного проекта. Данная информация закрепляется в Уставе проекта.

Устав проекта документирует бизнес-потребности, текущее понимание потребностей заказчика научно-исследовательского проекта, а также новый продукт, услугу или результат, который планируется создать. Заинтересованные стороны проекта, а также их ожидания, приведены в таблице 5.7:

Таблица 5.7 – Заинтересованные стороны проекта

Заинтересованные стороны проекта	Ожидания заинтересованных сторон
Сельскохозяйственная промышленность	Изучение негативного воздействия наночастиц платины и оксида цинка на плодородие почв
Научно-исследовательские институты	Проведение исследований в области изучения воздействия наночастиц на компоненты окружающей среды
Предприятия nanoиндустрии	Оценка воздействия деятельности таких предприятий на окружающую среду

Далее приводится информация об иерархии целей проекта и критериях достижения целей (таблица 5.8):

Таблица 5.8 – Цели и результат проекта

Цели проекта:	Целью данной работы является определение типа опасности почвы, контаминированной наночастицами платины и оксида цинка по показателям микробиологической активности.
Ожидаемые результаты проекта:	Определение типов опасности (чрезвычайно опасные, высоко опасные, умерено опасные и мало опасные), согласно критериям отнесения веществ к классам опасности, предложенным в «Санитарных правилах по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления. СП 2.1.7.1386-03».
Критерии приёмки результата проекта:	Анализ показателей микробиологической активности, в результате которого загрязнение почвенного покрова наночастицами платины и оксида цинка будет отнесено к одному из вышеописанных типов опасности.
Требования к результату проекта:	Требования:
	Соответствие законодательству РФ в области охраны окружающей среды и охраны труда. Соблюдение мер безопасности при проведении лабораторных исследований.
	Экономическая целесообразность проводимых исследований. Возможность применения полученных результатов в сельскохозяйственной промышленности и в области экологической безопасности.

Таким образом, на стадии инициации проекта были выявлены заинтересованные стороны, а также цели, ожидаемые результаты и требования к ним.

5.2.2 Организационная структура проекта

На данном этапе работы необходимо рассмотреть следующие аспекты: кто будет входить в рабочую группу данного проекта, определить роль каждого участника, а также прописать функции, выполняемые каждым из участников и их трудозатраты в проекте. Данные о рабочей группе проекта приведены в таблице 5.9.

Таблица 5.9– Рабочая группа проекта

№ п/п	ФИО, основное место работы, должность	Роль в проекте	Функции	Трудо- затраты, час.
1	Луцаева И.В., старший научный сотрудник НИ ТГУ	Координация, консультирование (руководитель проекта, эксперт проекта)	Координирование деятельности	220
2	Шубенко Д.Ю., магистрант каф. ЭБЖ НИ ТПУ	Выполнение (исполнитель проекта)	Выполнение исследовательской работы.	750
ИТОГО:				970

Таким образом, на данном этапе была озвучена рабочая группа проекта.

5.2.3 Ограничения и допущения проекта

Ограничения НИР – это те факторы, которые могут послужить ограничением степени свободы участников НИР, а так же «границы проекта» – параметры проекта или его продукта, которые не будут реализованных в рамках данного проекта. В таблице 5.10 приведён перечень факторов, которые могут послужить ограничением степени свободы участников команды проекта.

Таблица 5.10 – Ограничения проекта

Фактор	Ограничения/ допущения
1. Бюджет проекта	1 315 000 руб.
1.1. Источник финансирования	НИ ТПУ
2. Сроки проекта:	20.12.2016 – 30.05.2017
2.1. Дата утверждения плана управления проектом	8.01.2017
2.2. Дата завершения проекта	30.05.2017

Таким образом, бюджет, выделенный на проект, составит 1 315 000 рублей.

5.3 Планирование управления научно-техническим проектом

Группа процессов планирования состоит из процессов, осуществляемых для определения общего содержания работ, уточнения целей и разработки последовательности действий, требуемых для достижения данных целей.

План управления научным проектом должен включать в себя следующие элементы.

5.3.1. Иерархическая структура работ проекта

Иерархическая структура работ (ИСР) – детализация укрупнённой структуры работ. В процессе создания ИСР структурируется и определяется содержание всего проекта. На рисунке 5.1 представлена иерархическая структура работ по проекту.



Рисунок 5.1 – Иерархическая структура проекта

Таким образом, иерархическая структура проекта включает в себя три этапа: подготовительный, основной и заключительный.

5.3.2. Контрольные события проекта

В рамках данного раздела необходимо определить ключевые события проекта, определить их даты и результаты, которые должны быть получены по состоянию на эти даты (таблица 5.11).

Таблица 5.11 – Контрольные события проекта

№ п/п	Контрольное событие	Дата	Результат (подтверждающий документ)
1	Выбор темы научно-исследовательской работы. Постановка цели и задач	20.12.17	Приказ
2	Анализ литературы	16.03.17	Отчёт по научно-производственной практике
3	Исследования в период прохождения научно-производственной практики	16.03.17	Отчёт по научно-производственной практике. Защита НПП.
4	Оформление научно-исследовательской работы	30.05.17	Предзащита магистерской диссертации.

Таким образом, контрольными событиями выполнения магистерской диссертации выступают: выбор темы научно-исследовательской работы, анализ литературы, исследования в период прохождения научно-производственной практики и оформление данных результатов.

5.3.3 План проекта

В рамках планирования научного проекта был составлен календарный план проекта (таблица 5.12).

Расчёт продолжительности и последовательности работ даёт возможность своевременно и эффективно выполнять запланированный объем работ.

Таблица 5.12 – Календарный план проекта

Код работы (из ИСР)	Название	Длительность, рабочие дни	Дата начала работ	Дата окончания работ	Состав участников (ФИО ответственных исполнителей)
1.1	Выбор темы научно-исследовательской работы. Постановка цели и задач.	3	20.12.2016	22.12.2016	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко

Продолжение таблицы 5.12

1.2	Выбор объектов и методов исследования.	3	10.01.17	12.01.17	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко
1.3	Исследования в период прохождения научно-производственной практики	40	30.01.17	10.03.17	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко
1.4	Анализ литературы.	13	15.02.17	27.02.17	Д.Ю.Шубенко
2.1	Определение общего микробного числа в образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины или оксида цинка	15	20.03.17	3.04.17	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко
2.2	Определение процента подавления спорных и пигментных бактерий в образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины или оксида цинка	15	3.04.17	17.04.17	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко
2.3	Определение процента подавления роста азотобактера в почве, обработанной суспензией наночастиц платины или оксида цинка	15	17.04.17	1.05.17	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко
2.4	Изучение процессов нитрификации в почвах, обработанных суспензией наночастиц платины или оксида цинка	15	1.05.17	15.05.17	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко
3.1	Оценка и анализ полученных результатов	15	15.05.17	29.05.17	И.В. Луцаева Д.Ю. Шубенко
3.2	Оформление научно-исследовательской работы	5	29.05.17	2.06.17	Д.Ю. Шубенко
Итого:		121			

Далее требуется построить диаграмму Ганта. Диаграмма Ганта – это тип столбчатых диаграмм (гистограмм), который используется для иллюстрации календарного плана проекта, на котором работы по теме представляются протяжёнными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ. Диаграмма представлена в таблице 5.13.

Таблица 5.13 – Календарный план-график проведения НИОКР по теме

Код работы (из ИСР)	Вид работы	Исполнители	Т _к , кал. дн.	Продолжительность выполнения работ																				
				дек.			январь			фев.			март			апр.			май			июнь		
				1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
1.1	Выбор темы научно-исследовательской работы. Постановка цели и задач.	Р, М	3			■																		
1.2	Выбор объектов и методов исследования.	Р, М	3			■																		
1.3	Исследования в период прохождения научно-производственной практики	Р, М	40				■	■	■	■	■													
1.4	Анализ литературы.	М	13					■	■															
2.1	Определение общего микробного числа в образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины или оксида цинка	Р, М	15										■	■										
2.2	Определение процента подавления споровых и пигментных бактерий в образцах почвы, обработанной суспензией наночастиц платины или оксида цинка	Р, М	15										■	■										
2.3	Определение процента подавления роста азотобактера в почве, обработанной суспензией наночастиц платины или оксида цинка	Р, М	15											■	■	■								
2.4	Изучение процессов нитрификации в почвах, обработанных суспензией наночастиц платины или оксида цинка	Р, М	15													■	■	■						
3.1	Оценка и анализ полученных результатов	Р, М	15														■	■						
3.2	Оформление научно-исследовательской работы	М	5															■	■					
	Общее количество раб. дней		110																					

■	Руководитель проекта	■	Исполнитель (магистрант)
---	----------------------	---	--------------------------

5.3.4 Бюджет научного исследования

При планировании бюджета научного исследования должно быть обеспечено полное и достоверное отражение всех видов планируемых расходов, необходимых для его выполнения.

Расчёт стоимости материальных затрат производится по действующим прейскурантам или договорным ценам. В стоимость материальных затрат включают транспортно-заготовительные расходы (3 – 5 % от цены). Результаты представлены в таблице 5.14.

Таблица 5.14 – Сырьё, материалы, комплектующие изделия и покупные полуфабрикаты

Наименование	Кол-во	Цена за единицу, руб.	Сумма, руб.
<i>Химические реактивы</i>			
Аммоний сернокислый	50 гр.	0,84	42
Д (-) маннит, ч.д.а.	50 гр.	0,8	40
Железо (II) сернокислое 7-водное	5 гр.	5	25
Калий азотнокислый	50 гр.	1,8	90
Калий фосфорнокислый однозамещённый	50 гр.	2,5	125
Калий фосфорнокислый двузамещённый 3-водный	10 гр.	2,5	25
Калий-натрий виннокислый	50 гр.	1,2	60
Кальций углекислый	100 гр.	0,9	90
Кислота уксусная	0,2 л	145	29
Магний сернокислый 7-водный	50 гр.	1,72	86
Натрий хлористый	100 мл	0,27	27
Реактив Грисса	100 гр.	0,92	92
Спирт этиловый	1 л	240	240
Агар-агар микробиологический	100 гр.	2,8	280

Продолжение таблицы 5.14

Мясо-пептонный бульон	250 гр.	2,64	660
<i>Лабораторная посуда</i>			
Стёкла предметные для микропрепаратов	1 уп. (50 шт.)	200	200
Стёкла покровные для микропрепаратов	1 уп. (200 шт.)	270	270
Воронка лабораторная	3 шт.	200	600
Колба коническая, 1000мл	2 шт.	600	1200
Колба коническая, 250 мл	4 шт.	208	832
Пробирка лабораторная	1 уп. (200 шт.)	800	800
Палочка стеклянная	2 уп. (10 шт.)	200	400
Спиртовка	1 шт.	480	480
Промывалка	1 шт.	355	355
Стакан лабораторный	2 шт.	230	460
Чашки Петри одноразовые, стерильные	20 шт.	25	500
Ступка с пестиком фарфоровые	1 шт.	184	184
Бюксы стеклянные	4 шт.	70	280
Штатив для пробирок	1 шт.	610	610
Вата хлопковая медицинская гигроскопическая	1 шт.	145	145
Маркер по стеклу	1 шт.	65	65
Перчатки одноразовые из полиэтилена или латекса	1 уп. (100 шт.)	31	31
Халат лабораторный	1 шт.	450	450
Шапочка для головы	8 шт.	1,70	13,6
Респиратор органов дыхания	1 шт.	117	117
Очки защитные	1 шт.	400	400
Канцелярские товары	1 комплект	250	250
Всего за материалы			10553,6

Продолжение таблицы 5.14

Транспортно-заготовительные расходы, 10%	1055,36
Итого по статье См	11608,96

Таким образом, расходы на сырьё, материалы, средства индивидуальной защиты, лабораторную посуду и прочее составят 11608,96 руб.

Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ

В данную статью включают все затраты, связанные с приобретением специального оборудования (приборов, контрольно-измерительной аппаратуры, стенов, устройств и механизмов), необходимого для проведения работ по конкретной теме.

Таблица 5.15 – Расчёт затрат по статье

«Спецоборудование для научных работ» № п/п	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, руб.	Общая стоимость оборудования, тыс. руб.
1	Весы аналитические с точностью до 0,01	1	83,9	83,9
2	Пипетка автоматическая 1-канальная объёмом 1,0-5,0 см ³	1	5,5	5,5
3	Инкубатор, обеспечивающий температуру (27±1)	1	50	50
4	Бокс изолирующий II класса биологической защиты	1	150	150
5	Автоклав	1	150	150
6	Аквадистиллятор электрический АЭ-10 МО	1	33	33
7	Встряхиватель	1	30	30

Продолжение таблицы 5.15

8	Шкаф сушильный, позволяющий поддерживать температуру (160±5) °С	1	90,3	90,3
9	Холодильник электрический бытовой, позволяющий поддерживать температуру не более 5 °С	1	8	8
10	Микроскоп световой биологический с бинокулярной насадкой с увеличением 40-1000	1	23,7	23,7
11	Ноутбук	1	22	22
Итого				646,4

Таким образом, стоимость специального оборудования для проведения научно-исследовательских работ составит 646 400 руб.

Основная заработная плата

В настоящую статью включается основная заработная плата научных и инженерно-технических работников, рабочих макетных мастерских и опытных производств, непосредственно участвующих в выполнении работ по данной теме. Величина расходов по заработной плате определяется исходя из трудоёмкости выполняемых работ и действующей системы оплаты труда. В состав основной заработной платы включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы.

Статья включает основную заработную плату работников, непосредственно занятых выполнением проекта, (включая премии, доплаты) и дополнительную заработную плату.

$$C_{зп} = Z_{осн} + Z_{доп} , \quad (5.3)$$

где $Z_{осн}$ – основная заработная плата;

$Z_{\text{доп}}$ – дополнительная заработная плата.

Основная заработная плата ($Z_{\text{осн}}$) руководителя (лаборанта, инженера) от предприятия (при наличии руководителя от предприятия) рассчитывается по следующей формуле:

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{дн}} \cdot T_{\text{раб}}, \quad (5.4)$$

где $Z_{\text{осн}}$ – основная заработная плата одного работника;

$T_{\text{р}}$ – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн.;

$Z_{\text{дн}}$ – среднедневная заработная плата работника, руб.

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_{\text{м}} \cdot M}{F_{\text{д}}}, \quad (5.5)$$

где $Z_{\text{м}}$ – месячный должностной оклад работника, руб.;

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

при отпуске в 24 раб. дня $M = 11,2$ месяца, 5-дневная неделя;

при отпуске в 48 раб. дней $M = 10,4$ месяца, 6-дневная неделя;

$F_{\text{д}}$ – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб. дней (таблица 5.16).

Таблица 5.16 – Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Инженер (исполнитель)
Календарное число дней	222/365	222/365
Количество нерабочих дней		
- выходные дни	104	104
- праздничные дни	14	14
Потери рабочего времени		
- отпуск	48	28
- невыходы по болезни	–	–
Действительный годовой фонд рабочего времени	144/247	144/247

Месячный должностной оклад работника:

$$Z_{\text{м}} = Z_{\text{б}} \cdot k_{\text{р}} \quad (5.6)$$

где $Z_{\text{б}}$ – базовый оклад, руб.;

$Z_6 = 33162,87$ руб – базовый оклад руководителя (профессор, доктор ф.м.н),

$Z_6 = 6\ 976,22$ руб – базовый оклад магистранта (учебно-вспомогательный персонал 1-го квалификационного уровня).

k_p – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

Основная заработная плата руководителя (от ТПУ) рассчитывается на основании отраслевой оплаты труда. Отраслевая система оплаты труда в ТПУ предполагает следующий состав заработной платы:

1) оклад – определяется предприятием. В ТПУ оклады распределены в соответствии с занимаемыми должностями, например, ассистент, ст. преподаватель, доцент, профессор. Базовый оклад Z_6 определяется исходя из размеров окладов, определённых штатным расписанием предприятия. Размер окладов ППС и НС ТПУ представлен на корпоративном портале ТПУ.

2) стимулирующие выплаты – устанавливаются руководителем подразделений за эффективный труд, выполнение дополнительных обязанностей и т.д.

3) иные выплаты; районный коэффициент.

Месячный должностной оклад научного руководителя:

$$Z_m = 33162,87 \times 1,3 = 43\ 111,7 \text{ руб.}$$

Месячный должностной оклад магистранта:

$$Z_m = 6\ 976,22 \times 1,3 = 9\ 069,09 \text{ руб.}$$

Среднедневная заработная плата научного руководителя:

$$Z_{дн} = 43111,7 / 22 = 1\ 959,62 \text{ руб.}$$

Среднедневная заработная плата магистранта:

$$Z_{дн} = 9069,09 / 22 = 412,23 \text{ руб.}$$

Расчёт основной заработной платы приведён в таблице 5.17.

Таблица 5.17 – Расчёт основной заработной платы

Исполнители	Z_6 , руб.	k_p	Z_m , руб	$Z_{дн}$, руб.	T_p , раб. дн.	$Z_{осн}$, руб.
Руководитель	33162,87	1,3	43111,7	1959,62	144	282485,66
Инженер	6 976,22	1,3	9069,1	412,23	144	59361,12

Таким образом, за год основная заработная плата руководителя составит 282 485,66 руб., инженера – 59 361,12 руб.

Расчёт дополнительной заработной платы

В данную статью включается сумма выплат, предусмотренных законодательством о труде; оплата времени, связанного с выполнением государственных и общественных обязанностей; выплата вознаграждения за выслугу лет и т.п. (в среднем – 12 % от суммы основной заработной платы).

Дополнительная заработная плата рассчитывается исходя из 10-15% от основной заработной платы, работников, непосредственно участвующих в выполнении темы:

$$Z_{\text{доп}} = k_{\text{доп}} \cdot Z_{\text{осн}}, \quad (5.7)$$

где $Z_{\text{доп}}$ – дополнительная заработная плата, руб.;

$k_{\text{доп}}$ – коэффициент дополнительной зарплаты, $k_{\text{доп}} = 0,15$

В таблице 5.18 приведена форма расчёта основной и дополнительной заработной платы:

Таблица 5.18 – Заработная плата исполнителей НТИ

Заработная плата	Руководитель, (руб)	Инженер, (руб)
Основная зарплата	282 485,66	59 361,12
Дополнительная зарплата	42 372,84	8 904,17
Зарплата исполнителя	324 858,5	68 265,29
Итого по статье $C_{\text{зп}}$	393 123,79	

Таким образом, заработная плата исполнителей научно-технических исследований составит: для руководителя – 324 858,5 руб., для инженера – 68 265,29 руб.

Отчисления на социальные нужды

Статья включает в себя отчисления во внебюджетные фонды. На 2017 год общие тарифы страховых взносов следующие (таблица 5.19):

Таблица 5.19 – Общие тарифы страховых взносов на 2017 г.

Ставка ПФР	Ставка ФФОМС
22,0%	5,1%

Совокупная ставка общих страховых взносов составит 27,1%, поскольку работы по написанию магистерской диссертации выполнялись по договору подряда. То есть 27,1% от суммы затрат на оплату труда работников, непосредственно занятых выполнением ВКР.

$$C_{\text{внеб}} = k_{\text{внеб}} \cdot (З_{\text{осн}} + З_{\text{доп}}), \quad (5.8)$$

где $k_{\text{внеб}}$ – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды (пенсионный фонд, фонд обязательного медицинского страхования и пр.).

Соответственно сумма страховых отчислений равна:

Для руководителя: $C_{\text{внеб}} = 0,271 \times (282485,66 + 42372,84) = 88\,036,65$ руб.

Для инженера: $C_{\text{внеб}} = 0,271 \times (59361,12 + 8904,17) = 18\,499,89$ руб.

Всего отчислений: $C_{\text{внеб}} = 0,271 \times C_{\text{зп}} = 106\,536,55$ руб.

Накладные расходы

В эту статью включаются затраты на управление и хозяйственное обслуживание, которые могут быть отнесены непосредственно на конкретную тему. Кроме того, сюда относятся расходы по содержанию, эксплуатации и ремонту оборудования, производственного инструмента и инвентаря, зданий, сооружений и др. В расчётах эти расходы принимаются в размере 70-90 % от суммы основной заработной платы научно-производственного персонала данной научно-технической организации.

В связи с тем, что при проведении исследования использовалось оборудование на базе ТПУ затраты на накладные расходы будут меньше и составят 40 % от суммы основной и дополнительной заработной платы, работников, непосредственно участвующих в выполнении темы.

Расчёт накладных расходов ведётся по следующей формуле:

$$C_{\text{накл}} = k_{\text{накл}} \cdot (З_{\text{осн}} + З_{\text{доп}}), \quad (5.9)$$

где $k_{\text{накл}}$ – коэффициент накладных расходов, $k_{\text{накл}} = 0,4$.

Для руководителя: $C_{\text{накл}} = 0,4 \times (282\,485,66 + 42372,84) = 129\,943,4$ руб.

Для инженера: $C_{\text{накл}} = 0,4 \times (59\,361,12 + 8\,904,168) = 27\,306,116$ руб.

$$C_{\text{накл}} = 157\,249,51 \text{ руб.}$$

На основании полученных данных по отдельным статьям затрат составляем калькуляцию плановой себестоимости ВКР на тему «Математическое моделирование оценки воздействия верховых лесных пожаров на здания и сооружения» приведённый в таблице 5.20:

Таблица 5.20 – Калькуляция плановой себестоимости ВКР

Наименование статей затрат	Сумма, руб
Материалы	11 608,96
Оборудование	646 400
Оплата труда работников, непосредственно занятых созданием НИР	393 123,79
Страховые взносы	106 536,55
Накладные расходы	157 249,51
Итого себестоимость ВКР	1 314 918,81

Таким образом, себестоимость ВКР, с учётом затрат на материалы, оборудование, оплату труда работников, страховые взносы и накладные расходы составит 1 314 918,81

5.3.5 Матрица ответственности

Для распределения ответственности между участниками проекта формируется матрица ответственности (таблица 5.21).

Таблица 5.21 – Матрица ответственности

Этапы проекта	Луцаева И.В., старший научный сотрудник НИ ТГУ	Шубенко Д.Ю., магистрант каф. ЭБЖ НИ ТПУ
Подготовительный этап.	О	И
Основной этап.	О У	И
Заключительный этап.	У О	О И

Степень участия в проекте характеризуется следующим образом:

Ответственный (О)– лицо, отвечающее за реализацию этапа проекта и контролирующее его ход.

Исполнитель (И) – лицо, выполняющее работы в рамках этапа проекта.

Утверждающее лицо (У) – лицо, осуществляющее утверждение результатов этапа проекта (если этап предусматривает утверждение).

Согласующее лицо (С) – лицо, осуществляющее анализ результатов проекта и участвующее в принятии решения о соответствии результатов этапа требованиям.

5.3.6 Реестр рисков проекта

Идентифицированные риски проекта включают в себя возможные неопределённые события, которые могут возникнуть в проекте и вызвать последствия, которые повлекут за собой нежелательные эффекты.

Уровень риска оценивается как высокий, средний или низкий в зависимости от вероятности наступления и степени влияния риска. Риски с наибольшей вероятностью наступления и высокой степенью влияния будут иметь высокий уровень, риски же с наименьшей вероятностью наступления и низкой степенью влияния соответственно низкий уровень.

Реестр рисков, которые могут возникнуть при определении типа опасности почвы, контаминированной наночастицами платины и оксида цинкам, приведён в таблице 5.22.

Таблица 5.22 – Реестр рисков

№	Риск	Потенциальное воздействие	Вероятность наступления	Влияние риска	Уровень риска	Способы смягчения риска	Условия наступления
1.	Получение неадекватного результата эксперимента, следовательно, неверные выводы.	Получение неверного результата	средняя	высокое	высокий	Проведение доп. консультаций с научным руководителем	Невнимательность, неточное соблюдение методических рекомендаций
2.	Рассыпание или разлитие материала, заражённого наночастицами	Попадание наночастиц в организм или в воздух лаборатории	низкая	высокое	высокий	Внимательность, тщательное соблюдение техники безопасности	Неаккуратность, пренебрежительное отношение к технике безопасности
3.	Порча лабораторного оборудования	Остановка или срыв эксперимента, ранения, смерть	низкая	высокое	низкий	Внимательность, тщательное соблюдение техники безопасности	Неаккуратность, пренебрежительное отношение к технике безопасности, отсутствие навыков обращения с лабораторным оборудованием

5.3.7 Вывод

Результатом написания главы «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» стало, в первую очередь, вычисление себестоимости написания магистерской диссертации. Таким образом, себестоимость магистерской диссертации, с учётом затрат на материалы, оборудование, оплату труда работников (руководителя и инженера), а также с учётом страховых взносов и накладных расходов, составит 1 314 918,81 руб.

Помимо этого, в результате написания данной главы магистерской диссертации было проведено сегментирование рынка, анализ конкурентных технических решений (для них была приведена оценочная карта), построена матрица SWOT, учитывающая сильные и слабые стороны проекта, а также его возможности и угрозы. Кроме того, была определена степень готовности проекта к коммерциализации: на данный момент проект к коммерциализации не готов, в связи с недостатком исследований по теме, а также с весьма краткими сроками работы над проектом.

Для стадии инициации проекта были определены заинтересованные в его реализации стороны, его цели, ожидаемые результаты и требования к ним. Был приведён список задействованных в реализации проекта лиц, определены ограничения и допущения.

Также была определена иерархическая структура работ. Все работы были разделены на три этапа: подготовительный (включает в себя три пункта), основной (включает четыре пункта) и заключительный (включает два пункта). На основании ИСР был описан календарный план проекта, руководствуясь которым, мы построили диаграмму Ганта.

Далее был рассчитан бюджет проекта (о котором уже упоминалось выше) и, в конечном итоге, был приведён реестр рисков, в котором описали возможные, при выполнении лабораторных исследований, риски, их уровень, вероятность наступления, а также способы их смягчения.

6 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

Социальная ответственность (как морально-этический принцип) включает в себя ответственность перед людьми и данными им обещаниями, когда организация учитывает интересы коллектива и общества, возлагая на себя ответственность за влияние их деятельности на заказчиков, поставщиков, работников (ICCSR 26000:2011 «Социальная ответственность организации» [53]).

Социальная ответственность – ответственность организации за воздействие её решений и деятельности на общество и окружающую среду через прозрачное и этическое поведение, которое:

- а) содействует устойчивому развитию, включая здоровье и благосостояние общества;
- б) учитывает ожидания заинтересованных сторон;
- в) соответствует применяемому законодательству и согласуется с международными нормами поведения (включая промышленную безопасность и условия труда, экологическую безопасность);
- г) интегрировано в деятельность всей организации и применяется во всех её взаимоотношениях (включая промышленную безопасность и условия труда, экологическую безопасность).

Настоящая магистерская диссертация ставит своей целью определение типа опасности почвы, контаминированной наночастицами платины и оксида цинка по показателям микробиологической активности.

В качестве объекта исследования данная работа рассматривает показатели микробиологической активности почвы, контаминированной наночастицами, а именно: общая микробная численность, динамика азота в почве и динамика нитратов в почве.

В ходе написания магистерской диссертации были проведены лабораторные исследования по определению общей микробной численности, нитрифицирующих микроорганизмов и азотфиксирующих микроорганизмов

в образцах почв, обработанных суспензиями наночастиц платины и оксида цинка.

Обработка полученных в результате лабораторных исследований данных производится на электронно-вычислительных машинах в помещении, соответствующем требованиям санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам СанПиН 2.2.2/2.4.1340-03 [54].

Целью данного раздела является: анализ опасных и вредных факторов, оказывающих воздействие на человека при данном виде производственной деятельности; решение вопросов обеспечения защиты от них на основе требований действующих нормативно-технических документов.

6.1 Профессиональная социальная безопасность

Данная работа была выполнена в научно-исследовательском институте биологии и биофизики Томского государственного университета, в лаборатории биоразнообразия и экологии. В лаборатории проводили опыты по посеву микроорганизмов, отобранных из образцов почв, пролитых суспензией наночастиц платины и оксида цинка. Опыты проводились в лаборатории с использованием химической посуды, реактивов и оборудования (аналитические весы, инкубатор, встряхиватель, шкаф сушильный, автоклав, бинокулярный микроскоп и пр.).

Лаборатория, в которой проводятся исследования, должна соответствовать санитарным нормам СН 535-81 [55]. Перед началом работы в лаборатории, был проведён инструктаж по технике безопасности и правилам работы в химической лаборатории. В ходе инструктажа были освоены средства защиты и методы устранения чрезвычайных ситуаций. При работе были использованы средства индивидуальной защиты: химический халат из несинтетического материала, длина которого обеспечивает защиту лаборанта и не препятствует его работе, одноразовые перчатки из

полиэтилена или латекса, защитные очки, шапочка для головы и респиратор при работе с токсическими веществами.

6.1.1 Анализ вредных и опасных факторов, которые может создать объект исследования

Принцип предосторожности должен применяться к нанотехнологиям, поскольку уже имеющиеся результаты научных исследований свидетельствуют о том, что, по крайней мере, некоторые наноматериалы и наночастицы могут нанести серьёзный вред человеческому здоровью. Малые размеры наночастицы могут придать им новые как потенциально полезные, так и негативные свойства. Проведённые исследования воздействия наночастицы на человеческий организм и окружающую среду подтверждают такого рода опасения, поэтому необходимо принимать соответствующие меры предосторожности и проводить дальнейшие исследования.

Свободные наночастицы вызывают особую озабоченность, поскольку они легче всего могут проникать в организм человека, реагировать с клетками и вызывать повреждения тканей. Включённые в состав других материалов, наночастицы также могут представлять опасность. Благодаря своим размерам, наночастицы могут проникать через биологические мембраны и попадать в клетки, ткани и органы легче, чем более крупные частицы. При вдыхании они могут попасть из лёгких в систему кровообращения. Имеется множество данных о том, что некоторые наночастицы могут проникать через повреждённую кожу, особенно в присутствии поверхностно-активных веществ, либо при массажировании и сгибании кожных покровов, попадая в систему кровообращения. При попадании в желудочно-кишечный тракт наночастицы могут пройти через стенку кишечника и попасть в кровь. Оказавшись в кровотоке, наноматериалы могут циркулировать по всему организму и накапливаться в органах и тканях, включая головной мозг, печень, сердце, почки, селезёнку, костный мозг и нервную систему. Попадая внутрь клеток, они могут

способствовать нарушению их нормальных клеточных функций, вызвать окислительные повреждения и даже смерть.

Таким образом, при определении токсичности наноматериалов и высокодисперсных материалов для почвенных микроорганизмов необходимо соблюдать требования техники безопасности, установленные в стандартах и соответствующих нормативных документах.

По степени воздействия на организм человека вредные вещества, используемые при выполнении измерений, относятся ко 2 и 3 классам опасности по ГОСТ 12.1.007-76 [56]. При работе с химическими веществами, водными дисперсными системами наноматериалов и высокодисперсных материалов необходимо соблюдать требования по ГОСТ 12.1.007-76.

6.1.2 Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований

Работники могут подвергаться воздействию опасных и вредных производственных факторов в соответствии с ГОСТ 12.0.003-74 [57]. и ГОСТ 12.1.038-82 ССБТ [58]. В данной работе помимо химических факторов выступают факторы электробезопасности. Уровни предельно допустимых концентраций и уровней не должны превышать норму по ГОСТ 12.1.005-88 [59].

Микроклиматические параметры рабочей зоны

Микроклиматические параметры – это сочетание температуры, относительной влажности и скорости движения воздуха. Эти параметры в значительной степени влияют на функциональную деятельность человека, его самочувствие, здоровье, а также и на надёжность работы лабораторных установок и вычислительной техники. С целью создания нормальных условий для персонала установлены нормы производственного микроклимата.

Метеорологические условия рабочей производственной среды рекомендуются «Санитарными нормами проектирования промышленных

предприятий». Нормами установлены оптимальные допустимые температуры воздушной среды, относительная влажность воздуха, скорость движения воздушных потоков в зависимости от характера помещения, времени года и категории выполняемых работ.

В соответствии с СанПиН 2.2.4.548-96 [60] в химической лаборатории поддерживаются следующие параметры метеорологической среды:

- а) температура воздуха зимой 17–22 °С;
- б) температура воздуха летом до 28 °С;
- в) влажность воздуха 40–70%;
- г) скорость движения воздушных потоков 0,2 м/с.

Для обеспечения нормальных метеорологических условий и поддержания теплового равновесия между телом человека и окружающей средой в цехе проводится ряд мероприятий, основными из которых являются: устройства защитных экранов и обеспечение работающих спецодеждой.

Для удаления избыточного тепла и влаги используется устройство обще обменной вентиляционной системы, в холодное время года вводится центральное отопление. В помещении производства предусмотрено отопление. Используют водяное отопление, температура нагретых приборов не более 90°С, что исключает возможность ожога [61]

Освещение

Одним из важнейших элементов благоприятных условий труда является рациональное освещение помещений и рабочих мест. При правильном освещении повышается производительность труда, улучшаются условия безопасности, снижается утомляемость организма работающих.

Недостаточность освещения приводит к напряжению зрения, ослабляет внимание, приводит к наступлению преждевременной утомлённости. Чрезмерно яркое освещение вызывает ослепление, раздражение и резь в глазах. Неправильное направление света на рабочем месте может создавать резкие тени, блики, дезориентировать работающего.

Все эти причины могут привести к несчастному случаю или профзаболеваниям, поэтому столь важен правильный расчёт освещённости.

В качестве источников света при искусственном освещении применяются преимущественно люминесцентные лампы типа ЛБ. Допускается применение лампы накаливания в светильниках местного освещения.

При необходимости производятся расчёты количества светильников для соблюдения норм в соответствии со СНиП 23-05-95 «Естественное и искусственное освещение» [62]. Все необходимые формулы и стандартные значения приведены там же.

Шум и вибрация

В настоящее время эксплуатация большинства технологического оборудования, энергетических установок, различных машин и механизмов и т.д. в химической промышленности неизбежно связано с возникновением шумов и вибрации различной частоты и интенсивности, оказывающих весьма неблагоприятное влияние на организм человека.

Шум – механические колебания в области частот 16–20000 Гц воспринимаются слуховым анализатором человека в виде звука. Для характеристики интенсивности звука установлена логарифмическая шкала уровней силы звука.

Вибрация – колебания упругих тел, аппаратов, машин, площадок, наблюдения при неправильной блокировке валов машин. Интенсивность вибрации зависит от частоты и амплитуды колебания. Частота колебаний составляет более 16 – 20 Гц. При повышении частоты колебаний появляется шум.

В лаборатории источником механического шума может быть любое работающее технологическое оборудование. Такой вид механического шума является непостоянным и его уровень не превышает безопасного для здоровья работающих уровня, регламентируемого ГОСТом 12.1.003-83 [63] и СН 2.2.4/2.1.8.562-96 [64], который составляет 75 дБ.

Существуют следующие меры борьбы с шумом и вибрацией. Основными из них в соответствии с [65] являются:

- а) переход на безредукторные передачи;
- б) изолирование технологических процессов и работ;
- в) разделение шумных помещений коридорами;
- г) применение средств индивидуальной защиты;
- д) покрытие стен звукоизолирующим материалом;
- е) устранение причин шума и вибрации или существенное их ослабление в источнике образования;
- ж) профилактические мероприятия медицинского характера.

Коллективные средства защиты.

Вентиляция, необходима для снижения загрязнённости воздуха вредными парами, газами, пылью и для создания нормальных условий труда в условиях работы в лаборатории [59].

На проектируемом производстве могут быть использованы следующие виды вентиляционных систем:

- а) приточная вентиляция – подаёт свежий воздух в рабочее время, вентилятор установлен в приточных вентиляционных камерах, имеет калорифер для подогрева воздуха и фильтр для очистки воздуха;
- б) вытяжная вентиляция – удаляет загрязнённый воздух из рабочей зоны, такую вентиляцию устанавливают по периметру здания;
- в) аварийная вентиляция – удаляет загрязнённый воздух из рабочей зоны, такую вентиляцию устанавливают по периметру. Она предназначена для быстрого удаления из помещения значительного количества воздуха со значительным содержанием вредных и опасных веществ. Весь производственный процесс ведут с включённой приточно-вытяжной вентиляцией [59].

Электробезопасность

При работе с электрическим оборудованием (например, с лабораторными установками или персональным компьютером) возникает возможность поражения электрическим током. С целью предупреждения поражений электрическим током к работе должны допускаться только лица, прошедшие инструктаж по технике безопасности.

Электрические установки представляют для человека большую потенциальную опасность, так как в процессе эксплуатации или проведении профилактических работ человек может коснуться частей, находящихся под напряжением. Поражение человека электрическим током возможно лишь при замыкании электрической цепи через его тело или, иначе говоря, при прикосновении человека к сети не менее чем в двух точках. Это происходит:

- а) при однофазном (однополюсном) прикосновении незаземленного от земли человека к незаземленным токоведущим частям электроустановок, находящихся под напряжением;
- б) при прикосновении к незаземленным частям, находящимся под напряжением, то есть в случае нарушения изоляции;
- в) при соприкосновении с полом и стенами, оказавшимися под напряжением.

Электрический ток представляет собой скрытый тип опасности, т.к. его трудно определить в токо- и нетоковедущих частях оборудования, которые являются хорошими проводниками электричества. Напряжения прикосновения и токи, протекающие через тело человека при нормальном (неаварийном) режиме электроустановки, не должны превышать: при переменном токе 50 Гц - напряжение < 2 В, сила тока $< 0,3$ мА; [66].

Для предотвращения электротравматизма большое значение имеет правильная организация работ, т.е. соблюдение правил технической эксплуатации электроустановок потребителей [67] и правил техники безопасности при эксплуатации электроустановок [66] и Правил устройства

электроустановок [68]. Для предотвращения электротравм следует соблюдать требования, предъявляемые к обеспечению электробезопасности:

- а) все узлы одного устройства и подключённое к нему периферийное оборудование должны питаться от одной фазы электросети;
- б) корпуса питающегося от электросети оборудования и внешних устройств должны быть заземлены радиально с одной общей точкой;
- в) для отключения оборудования должен использоваться отдельный пункт с автоматами и общим рубильником;
- г) все соединения питающихся от электросети устройств и внешнего оборудования должны проводиться при отключённом электропитании.

Основными мероприятиями, направленными на ликвидацию причин травматизма относятся:

- а) систематический контроль состояния изоляции электропроводов, кабелей, изоляционных трубок;
- б) разработка инструкций по техническому обслуживанию и эксплуатации средств вычислительной техники и контроль их соблюдения;
- в) соблюдение правил противопожарной безопасности;
- г) заземление металлических нормально нетоковедущих частей электрооборудования;
- д) своевременное и качественное выполнение работ по проведению планово-профилактических работ и предупредительных ремонтов.

Требования электробезопасности регламентируются: приказом Минэнерго РФ от 13 января 2003 г. № 6 «Об утверждении Правил технической эксплуатации электроустановок потребителей»; ПОТ Р М-016-2001, РД 153-34.0-03.150–00 [69].

Правила пожарной безопасности в лаборатории

Все помещения лаборатории должны соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91 [70] и иметь средства в соответствии с ГОСТ 12.4.009-83 [71]. При проведении работ в лабораториях следует соблюдать пожаро- и взрывобезопасность в соответствии с: ГОСТ 12.1.004; ГОСТ 12.1.010 [72]; «Правилами противопожарного режима в Российской Федерации», утверждёнными Постановлением Правительства Российской Федерации от 25 апреля 2012 года N 390 [73].

В соответствии с требованиями Технического регламента о требованиях пожарной безопасности [74], лаборатория по степени пожаро-взрывоопасности относится к категории «Ф5.1», а по степени огнестойкости – ко второму классу.

В качестве возможных источников воспламенения могут выступить: короткое замыкание в сети электрического тока и электрооборудования; нагревательные приборы (сушильный шкаф). Для предотвращения возгорания проводится тщательная изоляция электропроводки и токоведущих частей оборудования, а также заземление оборудования и термоизоляция нагревательных приборов.

Лаборатория должна быть оснащена пожарными кранами (не менее одного на этаж) с пожарными рукавами. В каждом рабочем помещении должны быть в наличии огнетушители и песок, а в помещениях с огнеопасными и легковоспламеняющимися веществами – дополнительные средства пожаротушения. В помещении лаборатории на видном месте должен находиться план эвакуации сотрудников в случае возникновения пожара [72].

6.1.3 Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов

Условия подготовки, проведения и завершения работы с наноматериалами и высокодисперсными материалами должны обеспечивать

необходимую защиту от попадания в организм исполнителя исследуемых наноматериалов и высокодисперсных материалов [75]:

1. В помещениях, в которых проводятся работы с водными дисперсными системами наноматериалов и высокодисперсных материалов запрещается приём пищи, любых напитков, курение, пользование косметикой;
2. В помещениях, где проводятся работы с порошкообразными (сухими) наноматериалами и высокодисперсными материалами, запрещается использование открытого огня и любых других нагревательных приборов, т.к. порошки наноматериалов и высокодисперсных материалов, вследствие высокой реакционной способности, могут быть легко воспламеняемыми и взрывоопасными;
3. Работы с водными дисперсными системами наноматериалов и высокодисперсных материалов допускается проводить в вытяжных шкафах, на лабораторных столах и другом лабораторном оборудовании в лабораторных помещениях с ограниченным доступом посторонних лиц;
4. Помещения, в которых проводятся работы, должны быть оборудованы раковинами с горячей и холодной водой. В лаборатории всегда должен быть запас моющих средств (диспенсер с жидким мылом) и одноразовые бумажные полотенца, которые могут использоваться как для вытирания рук, так и для устранения аварийного разлива жидкостей, содержащих наноматериалы и высокодисперсные материалы.

6.2 Экологическая безопасность

6.2.1 Анализ влияния объекта исследования на окружающую среду

Попадающие в окружающую среду искусственные наноматериалы представляют собой беспрецедентный класс промышленных загрязняющих веществ. Потенциальный вред окружающей среде может быть связан с необычными свойствами искусственных наноматериалов, включая их мобильность и персистентность в почве, воде и воздухе, бионакопление и непредвиденные взаимодействия с химическими и биологическими материалами. Уже проведенные (в том числе, и в рамках данной магистерской диссертации) исследования дают повод для беспокойства. Например, доказано, что наноразмерный алюминий в большом количестве способен останавливать рост сельскохозяйственных культур, наносеребро наносит вред ряду полезных микроорганизмов [76], а наночастицы оксида цинка и платины подавляют рост азотфиксирующих и нитрифицирующих микроорганизмов в почве (подробнее о негативном воздействии наночастиц оксида цинка и платины см. в гл.3–4).

6.2.2 Обоснование мероприятий по защите окружающей среды

При проведении методики измерений рекомендуется [75]:

- 1.Использовать одноразовую пластиковую посуду. Применяемое специальное оборудование и инструменты не допускается использовать в иных экспериментах без специальной обработки (тщательное мытьё с детергентами);
- 2.Все манипуляции, включая мытьё лабораторной посуды и инструментов (которые не подлежат утилизации), обязательно проводятся в защитных одноразовых перчатках;
- 3.Стеклянные флаконы с водными дисперсными системами наноматериалов и высокодисперсных материалов при хранении и во время экспериментов должны быть установлены в пластиковые или металлические эмалированные поддоны, исключающие загрязнение поверхностей столов при случайном разливе жидкостей. Все операции по переливанию, дозированию и иные действия с

исследуемыми материалами должны проводиться с использованием поддонов;

4. После завершения работ необходимо тщательно очистить все поверхности лабораторного оборудования. Использованные одноразовые СИЗ и прочие отходы, образующиеся в результате работы, (одноразовая посуда, материалы, использованные для очистки поверхностей, твёрдые и жидкие отходы) в конце рабочего дня упаковываются в специальные ёмкости для сбора отходов, и по мере их заполнения сдаются ответственному сотруднику для дальнейшей утилизации. Утилизация необработанных отходов в общую канализацию или с бытовым мусором не допускается. Запрещается выносить использованные СИЗ из помещения, в котором проводятся работы с использованием наноматериалов и высокодисперсных материалов.

Проводить обучение работающих безопасности труда по ГОСТ 12.0.004 [77].

6.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

Несмотря на вышеописанные негативные воздействия, которые могут оказывать на организм человека и окружающую среду как сами наночастицы, так и лабораторные исследования с их использованием, в нашем случае возникновение чрезвычайных ситуаций при проведении лабораторных исследований невозможно. Это связано с тем, что в лаборатории биоразнообразия и экологии, в которой производились исследования, работы непосредственно с порошком наночастиц не проводятся – в лабораторию поступают сосуды с уже приготовленными сторонней лабораторией суспензиями наночастиц. По этой причине чрезвычайных ситуаций, которые могли бы возникнуть при работе с порошками наночастиц, в лаборатории биоразнообразия и экологии НИ ТГУ возникнуть не может.

6.4 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

6.4.1 Специальные (характерные для рабочей зоны исследователя) правовые нормы трудового законодательства

При работах в рамках вредных или опасных условий труда, а также выполняемых в особых температурных условиях или связанных с загрязнением, работникам должны бесплатно выдаваться прошедшие обязательную сертификацию специальная одежда, обувь и другие средства индивидуальной защиты, а также смывающие и (или) обезвреживающие средства в соответствии с типовыми нормами.

При работе с наноматериалами и высокодисперсными материалами рекомендуется использовать следующие средства индивидуальной защиты (СИЗ):

- а) СИЗ общего назначения – лабораторные халаты по ГОСТ 12.4.131 [78], ГОСТ 12.4.132 [79];
- б) СИЗ головы – шапочки по ГОСТ 23134 [80];
- в) СИЗ рук – одноразовые перчатки из полиэтилена или латекса по ГОСТ 12.4.020 [81];
- г) СИЗ органов дыхания – респираторы по ГОСТ 12.4.296 [82];
- д) СИЗ глаз – защитные очки по ГОСТ Р 12.4.230.1 [83].

При определении токсичности наноматериалов и высокодисперсных материалов для почвенных микроорганизмов необходимо соблюдать требования техники безопасности, установленные в стандартах и соответствующих нормативных документах.

По степени воздействия на организм человека вредные вещества, используемые при выполнении измерений, относятся ко 2 и 3 классам опасности по ГОСТ 12.1.007 [56].

При работе с химическими веществами, водными дисперсными системами наноматериалов и высокодисперсных материалов необходимо соблюдать требования по ГОСТ 12.1.007 [56].

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 [70] и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009 [71].

Содержание используемых вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать установленных предельно допустимых концентраций по ГОСТ 12.1.005 [59].

Воздух производственных помещений должен соответствовать санитарным и гигиеническим требованиям по ГОСТ 12.1.005 [59].

Безопасность при работе с электроустановками обеспечивается по ГОСТ Р 12.1.019 [61] и в соответствии с требованиями инструкций к оборудованию.

6.4.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны исследователя

Персонал может быть допущен к работе в лаборатории только в спецодежде и средствах индивидуальной защиты. На рабочем месте должны находиться запасы сырья и материалов, количество которых не должно превышать сменную потребность. Каждому работнику необходимо знать специфические свойства применяемых веществ и соблюдать установленные правила работы с ними.

Производственный процесс должен быть организован так, чтобы не допускать выделения в воздух рабочей зоны мелкодисперсных частиц. Все эксплуатируемые электроустановки должны соответствовать требованиям «Правил технической эксплуатации электроустановок потребителей» [68], и других соответствующих нормативных документов.

Эксплуатация электрооборудования без заземления не допускается. Помещения опытно-производственной лаборатории должны быть обеспечены первичными средствами пожаротушения согласно действующим нормам.

Все работники должны уметь пользоваться средствами пожаротушения и уметь оказывать первую медицинскую помощь при наступлении несчастного случая. Не допускается загромождения рабочих мест, проходов, выходов из помещений и здания, доступа к противопожарному оборудованию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изученные в результате написания настоящей магистерской диссертации данные показывают, что токсичность рассматриваемых нами наночастиц неоднозначна и зависит, в том числе, от физической природы наночастиц, их размеров, структуры, концентрации, а также от биологической модели, на которой были проведены испытания токсичности данных наночастиц. Кроме того, различные наночастицы оказывают своё негативное воздействие на разные органеллы и функции микроорганизмов: некоторые наночастицы способны проникать сквозь клеточную мембрану или задерживаться на её поверхности, другие могут приводить к разрушению клеточной стенки и цитоплазматических мембран, что влечёт за собой вытекание внутреннего содержимого клетки, кроме того, наночастицы оксида цинка способны индуцировать реактивные формы кислорода, что также имеет антибактериальный эффект.

Рассматривая накопленный экспериментальный материал, можно обнаружить, что наночастицы не всегда оказывают токсическое или повреждающее воздействие. Так, например, исследователи показывают, что крупные наночастицы могут не только не оказывать негативного воздействия на рост почвенных микроорганизмов, но также могут и стимулировать их рост. Представленные результаты показывают, насколько разнообразны по своим свойствам наноматериалы, даже если они состоят из одного и того же химического вещества.

Выводы

На основании полученных материалов можно сделать следующие выводы:

1. Наночастицы оксида цинка оказывают угнетающее воздействие на рост пигментных бактерий, азотобактера и значительно снижают рост

микроорганизмов-нитрификаторов. Наночастицы оксида цинка оказывают стимулирующее воздействие на ОМЧ и на рост споровых микроорганизмов.

2. Влияние нано-Pt на микробное почвенное сообщество неоднозначно и, в том числе, зависит оно и от типа почв. Наночастицы платины оказывают стимулирующее воздействие на рост ОМЧ. Под воздействием наночастиц платины количество споровых бактерий возрастает в обоих рассмотренных в ходе исследования типах почв, однако всё равно остаётся ниже аналогичного показателя в контрольной пробе; наночастицы платины полностью подавляют рост пигментных бактерий в серых почвах, а также рост азотобактера в обоих случаях.

3. Важную роль при определении токсичности наночастиц играет тип почв, на образцах которых производились исследования. Почвенная микробиота из образцов серых лесных почв в подавляющем большинстве случаев более остро реагировала на наличие наночастиц, чем почвенная микробиота тёмно-серых лесных почв.

4. На основании полученных в результате исследования данных, ориентируясь на СП 2.1.7.1386-03 (см. таблицу 2.1 [49]), можно сделать вывод, что наночастицы оксида цинка и платины относятся к чрезвычайно опасным отходам, а контаминированные ими почвы относятся к сильно загрязнённым.

5. В результате написания раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» было вычислено, что себестоимость магистерской диссертации, с учётом затрат на материалы, оборудование, оплату труда работников (руководителя и инженера), а также с учётом страховых взносов и накладных расходов, составит 1 314 918,81 руб.

6. Результатом написания раздела «Социальная ответственность» стало определение профессиональной социальной безопасности и экологической безопасности при проведении рассмотренных лабораторных опытов.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

Шубенко, Д. Ю.. Опыт и перспективы использования биопрепаратов для ремедиации нефтезагрязнённых почв [Электронный ресурс] / Д. Ю. Шубенко; науч. рук. Р. Р. Ахмеджанов // Неразрушающий контроль сборник трудов VI Всероссийской научно-практической конференции «Неразрушающий контроль: электронное приборостроение, технологии, безопасность», Томск, 23–27 мая 2016 г.: в 3 т.: / Национальный исследовательский Томский политехнический университет (ТПУ). – Т. 3 . – С. 390-393 .

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Chai, H., Yao, J., Sun, J., Zhang, C., Liu, W., Zhu, M., Ceccanti, B. The effect of metal oxide nanoparticles on functional bacteria and metabolic profiles in agricultural soil // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2015. – Vol. 94, Issue 4. – P.490–495
2. Collins D., Luxton T., Kumar N., Shah S., Walker V.K., Shah V. Assessing the Impact of Copper and Zinc Oxide Nanoparticles on Soil: A Field Study // *PLoS ONE*. 2012. – Vol.7, №8
3. Ge Y., Schimel J. P., Holden P.A. Identification of Soil Bacteria Susceptible to TiO₂ and ZnO // *Nanoparticles Applied and Environmental Microbiology*. – 2012. – Vol.78, №18. – P. 6749–6758
4. Rousk J., Ackermann K., Curling S.F., Jones D. L. Comparative Toxicity of Nanoparticulate CuO and ZnO to Soil Bacterial Communities // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol.7, № 3
5. García-Gómez, C., Babin, M., Obrador, A., Álvarez, J.M., Fernández, M.D. Integrating ecotoxicity and chemical approaches to compare the effects of ZnO nanoparticles, ZnO bulk, and ZnCl₂ on plants and microorganisms in a natural soil // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2015. – Vol. 22, Issue 21. – P.16803–16813
6. Ge Y., Schimel J. P., Holden P. A. Evidence for Negative Effects of TiO₂ and ZnO Nanoparticles on Soil Bacterial Communities // *Environmental science technology*. – 2011. – №55. – P-1659–1664.
7. Du W., Sun Y., Ji R., Zhu J., Wu J., Guo H. TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil // *Journal of Environmental Monitoring*. – 2011. – № 13. – P.822–0828.
8. Simonin, M., Richaume, A. Impact of engineered nanoparticles on the activity, abundance, and diversity of soil microbial communities: a review //

9. Liu H.L., Yang T.K. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* and *Lactobacillus helveticus* by ZnO and TiO₂ activated with ultraviolet light // *Process Biochem.* 2003.39:475–481.

10. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ. 2006. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Res.* 40:3527–3532.

11. Ohira T., Yamamoto O., Iida Y., Nakagawa Z. Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation // *J. Mater Sci Mater Med.* 2008.-V.19.- pp.1407–1412.

12. Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu ZQ, Lin M. 2009. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. *J Appl Microbiol.* 107:1193–1201.

13. A.K.Safekordi, H.Attar, E.Binaeian Study on toxicity of manufactured nanoparticles to bacteria *Vibrio fischeri* using homemade luminometer // 2nd International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences (ICCEES'2012) Singapore April 28-29, 2012, 60-65

14. Raghupati RK, Koodali RT, Manna AC. 2011. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir.* 27:4020–4028.

15. Xie Y., He Y., Irwin P.L., Jin T., Shi X. Antibacterial activity and mechanism of zinc oxide nanoparticles on *Campylobacter jejuni* // *Appl Environ Microbiol.* 2011.- V.77.- pp. 2325–2331.

16. Chitra, K. and Annadurai, G. Antimicrobial activity of wet chemically engineered spherical shaped ZnO nanoparticles on food borne pathogen // *International Food Research Journal* 20(1): 59-64 (2013)

17. Jones N., Ray B., Koodali R.T., Manna A.C. Antibacterial activity of ZnO nanoparticles suspensions on a broad spectrum of microorganisms // *FEMS Microbiol Lett.* 2008.- V.279.- pp.71–76.

18. Yamamoto O. 2001. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int J Inorg Mater.* 3:643–646.
19. Padmavathy N, Vijayaraghavan R. 2008. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles – an antibacterial study. *Sci Technol Adv Mater.* 9:035004
20. Lu-E Shi, Zhen-Hua Li, Wei Zheng, Yi-Fan Zhao, Yong-Fang Jin & Zhen-Xing Tang Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review , *Food Additives & Contaminants: Part A* (2014): Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review, *Food Additives & Contaminants: Part A*, DOI: 10.1080/19440049.2013.865147
21. Jalal R, Goharshadi EK, Abareshi M, Moosavi M, Yousefi A, Nancarrow P. 2010. ZnO nanofluids: green synthesis, characterization, and antibacterial activity. *Mater Chem Phys.* 121:198–201.
22. Wahab R., Mishra A., Yun S.I., Hwang I.H., Mussarat J., Al-Khedhairi A.A., Kim Y.S., Shin H.S. Fabrication, growth mechanism and antibacterial activity of ZnO micro-spheres prepared via solution process // *Biomass Bioenergy.*- 2012.- V.39.- pp.227–236.
23. Yamamoto O, Komatsu M, Sawai J, Nakagawa Z. 2004. Effect of lattice constant of zinc oxide on antibacterial characteristics. *J Mater Sci Mater Med.* 15:847–851.
24. Ohira T, Yamamoto O. 2012. Correlation between antibacterial activity and crystallite size on ceramics. *Chem Eng Sci.* 68:355–361.
25. Kim SW, An YJ. 2012. Effect of ZnO and TiO₂ nanoparticles preilluminated with UVA and UVB light on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 95:243–253.
26. Jiang W, Saxena A, Song B, Ward BB, Beveridge TJ, Myneni SCB. 2004. Elucidation of functional groups on Gram-positive and Gram-negative bacterial surfaces using infrared spectroscopy. *Langmuir.* 20:11433–11442.

27. Applerot G, Perkas N, Amirian G, Girshevitz O, Gedanken A. 2009. Coating of glass with ZnO via ultrasonic irradiation and a study of its antibacterial properties. *Appl Surf Sci.* 256: S3–S8.
28. Gordon T, Perlstein B, Houbara O, Felner I, Banin E, Margel S. 2011. Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids Surf A Physicochem Eng Aspects.* 374:1–8.
29. Tommy Fang, Jean-Luc Watsona, Jordan Goodman, Christian O. Dimkpa, Nicole Martineau, Siddhartha Das, Joan E. McLean, David W. Britt, Anne J. Anderson. Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonads?// *Microbiological Research* 168 (2013) 91–98
30. Manna AC. 2012. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles. In: Cioffi N, Rai M, editors. *Nano-antimicrobials: progress and prospects.* Berlin: Springer Press; p. 151–180.
31. Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Povey M, York D. 2007. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *J Nanopart Res.* 9:479–489.
32. Zhang L, Ding Y, Povey M, York D. 2008. ZnO nanofluids – a potential antibacterial agent. *Prog Nat Sci.* 18:939–944.
33. Neal, A.L., Kabengi, N., Grider, A., Bertsch, P.M. Can the soil bacterium *Cupriavidus necator* sense ZnO nanomaterials and aqueous Zn²⁺ differentially? // *Nanotoxicology*
34. Maye M. M., Lim I. I. S., Luo J., Rab Z., Rabinovich D., Liu T. B., Zhong C. J., Am J. Mediator-template assembly of nanoparticles // *Chem. Soc.* 2005, Vol. 127, pp. 1519– 1529.
35. Sawosz E., Chwalibog A., Szeliga J., Sawosz F., Grodzik M., Rupiewicz M., Niemiec T., Kacprzyk K. Visualization of gold and platinum nanoparticles interacting with *Salmonella Enteritidis* and *Listeria monocytogenes* // *International Journal of Nanomedicine* 2010:5, pp.631–637.

36. Muthu Manikandana,, Hui-Fen Wua, Nazim Hasana. Cell population based mass spectrometry using platinum nanodots for algal and fungal studies // *Biosensors and Bioelectronics* 35 (2012) 493– 497
37. Chwalibog A., Sawosz E., Hotowy A., Szeliga J., Mitura S., Mitura K., Grodzik M., Orłowski P., Sokolowska A. Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi // *International Journal of Nanomedicine* 2010:5, pp.1085–1094.
38. Rezaei-Zarchi S. Bactericidal Properties of Carbohydrate-Stabilized Platinum Oxide Nanoparticles // *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 74, 2011, p.616-620.
39. Gopal J., Hasan N., Manikandan M., Wu H.-F. Bacterial toxicity/compatibility of platinum nanospheres, nanocuboids and nanoflowers // *Sci. Rep.* 3, 2013, 1260; DOI:10.1038/srep01260.
40. Pan, Y., Neuss, S., Leifert, A., et al., Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles II // 2007. *Small* 3, 1941–1949.
41. Pelka J., Gehrke H., Esselen M., Turk M., Crone M., Brase S., Muller T., Blank H., Send W., Zibat V., Brenner P., Schneider R., Gerthsen D, Marko D. Cellular uptake of platinum nanoparticles in human colon carcinoma cells and their impact on cellular redox systems and DNA integrity // *Chem Res. Tox.* 22, 2009, 649–659.
42. Konieczny P., Goralczyk A.G., Szmyd R., Skalniak L., Koziel J., Filon F.L., Crosera M., Cierniak A., Zuba-Surma E.K., Borowczyk J., Laczna E., Drukala J., Pyza E., Semik D., Woznicka O., Klein A., Jura J. Effects triggered by platinum nanoparticles on primary keratinocytes // *International Journal of Nanomedicine* 2013:8 3963–3975.
43. Faheem Ahmad, Mansoor A. Siddiqui, Olubukola O. Babalola, Hui-Fen Wu. Biofunctionalization of nanoparticle assisted mass spectrometry as biosensors for rapid detection of plant associated bacteria // *Biosensors and Bioelectronics* 35 (2012) 235– 242.

44. Yao-Hsuan Tseng, Der-Shan Sun, Wen-Shiang Wu , Hao Chan, Ming-Syuan Syue, Han-Chen Ho, Hsin-Hou Chang. Antibacterial performance of nanoscaled visible-light responsive platinum-containing titania photocatalyst in vitro and in vivo // *Biochimica et Biophysica Acta* 1830 (2013) 3787–3795

45. Yuyun Zhao, Chunjie Ye, Wenwen Liu, Rong Chen, and Xingyu Jiang. Tuning the Composition of AuPt Bimetallic Nanoparticles for Antibacterial Application // *Angewandte Chemie* 2014, 126, pp8265 –826

46. Lushchaeva I.V., Morgalev Y.N. Effect of Platinum Nanoparticles on Biological Activity of Humus-Accumulated Horizons // *Adv. Mater. Res.*- 2015.- V.1085.-pp.384–390

47. Методические указания МУ 2.1.7.730-99. «Почва, очистка населённых мест, бытовые и промышленные отходы, санитарная охрана почвы. Гигиеническая оценка качества почвы населённых мест». – М.: Госкомсанэпиднадзор, 1999.

48. «Методические рекомендации по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве» от 05.08.82 N 2609-82. – М.: МЗ СССР, 1982.

48. Луцаева И.В., Моргалёв Ю.Н. Методические рекомендации по определению токсичности высокодисперсных материалов для почвенной микрофлоры. – Томск: 2016. – 26 с.

50. СП 2.1.7.1386-03 Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления. – М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2003.

51. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение: учебно-методическое пособие / Н.А. Гаврикова, Л.Р. Тухватулина, И.Г. Видяев, Г.Н. Серикова, Н.В. Шаповалова; Томский политехнический университет. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2014. – 73 с.

52. Теппер Е.З. Практикум по микробиологии – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Колос,1979. – 216 с.

53. IS CSR 26000 : 2011 Социальная ответственность организации. Требования. – М.: Центр экспертных программ Всероссийской организации качества, 2011. – 32 с.

54. ГОСТ 12.1.038-82 Электробезопасность. Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов

55. СН 535-81 Инструкция по проектированию санитарно-эпидемиологических станций. – М.: Министерство здравоохранения СССР, 1981.

56. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

57. ГОСТ 12.0.003-74 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Опасные и вредные производственные факторы. Классификация

58. ГОСТ 12.1.038-82 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электробезопасность. Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов

59. ГОСТ 12.1.005-88 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

60. СанПиН 2.2.4.548-96 Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений. – М.: Госкомсанэпиднадзор, 1996.

61. ГОСТ 12.1.019-79 (с изм. №1) ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

62. СНиП 23-05-95 Естественное и искусственное освещение. – М.: Минстрой РФ, 1995.

63. ГОСТ 12.1.003-83 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Шум. Общие требования безопасности

64. СН 2.2.4/2.1.8.562-96 Шум на рабочих местах, в помещениях жилых, общественных зданий и на территории жилой застройки. Санитарные нормы – М.: Госкомсанэпиднадзор, 1996.

65. ГОСТ 12.1.003-83 ССБТ. Шум. Общие требования безопасности

66. Межотраслевые правила по охране труда (правила безопасности) при эксплуатации электроустановок, ПОТ Р М-016-2001, РД 153-34.0-03.150-00. – М., 2011.

67. Приказ Минэнерго РФ от 13 января 2003 г. № 6 «Об утверждении Правил технической эксплуатации электроустановок потребителей»

68. Приказ Минэнерго РФ от 08.07.2002 № 204 «Правила устройства электроустановок», издание седьмое

69. ПОТ Р М-016-2001, РД 153-34.0-03.150-00 Межотраслевые правила по охране труда (правила безопасности) при эксплуатации электроустановок. – М.: Минэнерго, 2001.

70. ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования

71. ГОСТ 12.4.009-83. Пожарная техника для защиты объектов

72. ГОСТ 12.1.010-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Взрывобезопасность. Общие требования

73. Постановление Правительства Российской Федерации от 25 апреля 2012 года N 390 «О противопожарном режиме»

74. ФЗ-№123 «Технический регламент о требованиях пожарной безопасности», п.15 ст.69 – М.: 2008.

75. Луцаева И.В., Моргалёв Ю.Н. Методические рекомендации по определению токсичности высокодисперсных материалов для почвенной микрофлоры. – Томск: 2016. – 26 с.

76. Моргалёв Ю.Н., Моргалёва Т.Г., Хоч Н.С., Моргалёв С.Ю. Основы безопасности при обращении с наноматериалами. Курс лекций. – Томск: 2010. – 136 с.

77. ГОСТ 12.0.004-2015 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Организация обучения безопасности труда

78. ГОСТ 12.4.131-83 Халаты женские. Технические условия

79. ГОСТ 12.4.132-83 Халаты мужские. Технические условия

80. ГОСТ 23134-78 Уборы головные медицинские. Технические условия

81. ГОСТ 12.4.020-82 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Средства индивидуальной защиты рук. Номенклатура показателей качества

82. ГОСТ 12.4.296-2015 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Средства индивидуальной защиты органов дыхания. Респираторы фильтрующие. Общие технические условия

83. ГОСТ Р 12.4.230.1-2007 Система стандартов безопасности труда. Средства индивидуальной защиты глаз. Общие технические требования

Приложение 1

Раздел 1 Обзор литературы

Студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1ЕМ51	Шубенко Дарья Юрьевна		

Консультант кафедры ЭБЖ:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший научный сотрудник НИ ТГУ	Луцаева Инна Владимировна	к.б.н.		

Консультант – лингвист кафедры ИЯ ФТИ ТПУ:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Данейкина Наталья Викторовна			

LITERATURE REVIEW

Nanotechnology has an important role in the modern world. Engineering nanoparticles are increasingly used in consumer products. In the range of nanosized sizes, the properties of materials are significantly different from the properties of materials of the same composition of usual dimension, however, data on the effect of nanoparticles on the environment are rare.

Nanoparticles, when transported by air and water streams, eventually end up in the soil where their accumulation takes place, which creates the prerequisites for subsequent transmission through food chains to plants and then to animals.

Since the bacterial community of soil largely determines the basic property of the soil (fertility), it is extremely important to determine the risks of disruption of the composition and properties of soil microbial communities, and consequently, of the biological characteristics of the soil. There is little research in this direction. In general, the literature publishes data on the study of the effect of nanoparticles on pure cultures of microorganisms. However, when nanoparticles get into the soil, the properties of disperse systems containing nanoparticles and the effects of their effects on the bacterial soil community as a whole can also change.

When writing a literature review, literature sources were studied that consider the effect of platinum and zinc oxide nanoparticles on soil microorganisms. Below is a review of the literature sources for each of the listed types of nanoparticles.

Effect of nanoparticles of zinc oxide on microorganisms

Basically, the study of the effect of nanoparticles of zinc oxide on microorganisms is carried out on pure cultures. There are few studies analyzing the state of the microbial community of the soil as a whole.

A group of scientists (Chai et al.) studied the effect of various nanoparticles (including ZnO) on microbiological processes in soils [1]. The toxicological effect was assessed with the help of thermal metabolism, the prevalence of functional

bacteria and enzymatic activity. It was found that ZnO nanoparticles interfere with thermogenic metabolism, reduce the amount of nitrogenous bacteria in the soil, inhibit P-solubilization and K-solubilization of bacteria, and inhibit enzyme activity [1].

Collins et al. In their work indicate that, when analyzing microbial soil communities using culturally dependent and independent methods, ZnO nanoparticles can alter the structure of the microbial community [2]. The method of pyrosequencing confirms the hypothesis that the effect of nanoparticles significantly changes the microbial community. For example, bacteria of two orders - *Flavobacteriales* and *Sphingomonadales*, found in the rhizosphere, were particularly sensitive to the presence of zinc oxide nanoparticles. Ge and co-authors with the help of the pyrosequencing method studied the influence of zinc oxide nanoparticles on the microbial soil community, the results of the study showed a change in the structure of the community [3]. There is a decrease in the representatives of taxa associated with nitrogen fixation (*Rhizobiales*, *Bradyrhizobiaceae* and *Bradyrhizobium*) and methane oxidation (*Methylobacteriaceae*), at the same time the representation of bacteria of taxa associated with the decomposition of organic pollutants (*Sphingomonadaceae*) and biopolymers, including protein (*Streptomycetaceae* and *Streptomyces*), has increased, which indicates possible large-scale consequences for ecosystems [3].

In other works, a decrease in the growth of soil bacteria was observed under the influence of ZnO nanoparticles [4, 5]. As a result of their research, Rousk et al. conclude that for soil bacteria all forms of Zn toxic, in addition, ZnO in the macroform is more toxic than nano-ZnO. Rousk et al. obtained results that indicate that the main mechanism of toxicity was the dissolution of metal oxides and sulfates in the form of metal ions, which is known to be highly toxic to bacteria, and has not a direct effect of nanosized particles on bacteria [4].

In the works of other authors, in addition to the above, the following changes are also mentioned in the state of soil microbial communities when nanoparticles of zinc oxide are introduced into the soil: a decrease in total

microbial activity, a decrease in the total microbial number, a decrease in bacterial diversity, a change in the structure of the soil microbial community [6, 7, 8].

Various analytical methods are used to evaluate the antibacterial activity of ZnO nanoparticles. One of the most commonly used methods is the dilution of the nutrient agar medium with a suspension of nanoparticles, the addition of culture liquid to the test bacteria, incubation under favorable conditions, and then counting the grown colonies in comparison with the control, without adding nanoparticles. Currently, as a model bacteria for the evaluation of the antibacterial activity of ZnO nanoparticles, Gram-negative *Escherichia coli* and Gram-positive *Staphylococcus aureus* are used. Studies using other bacterial species such as *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Lactobacillus*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio fischer*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni* and *Proteus vulgaris* are limited to evaluate the antibacterial activity of ZnO nanoparticles [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Chitra and Annadurai investigated the antibacterial activity of ZnO nanoparticles against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aueruginosa*, as well as the antifungal activity of ZnO nanoparticles against *Aspergillus niger* [16].

Many authors in their studies have shown that the size of the nanoparticles themselves affects the antibacterial activity of ZnO nanoparticles [14, 16, 17, 18]. Yamamoto investigated the effect of the size of ZnO nanoparticles in the range 100–800 nm on antibacterial activity [18]. As a result, it was found that the antibacterial activity of nano-ZnO increases with decreasing particle size. Particularly clearly the dependence was observed in the range of 100–800 nm on cultures of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. This was also confirmed by other authors in the experiments with *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* [17, 19]. Padmavathi and Vijayaraghavan studied the bactericidal ability of a ZnO suspension with three different particle sizes (12 nm, 45 nm, 2 μ m) in the lower concentration range (0.01-1 mM) and a high concentration range (5-100 mM) against *Escherichia coli*. The results showed that a suspension of nano-ZnO with particles of size 12 nm was more effective than suspensions with large

particle sizes [19]. Raghupati et al. found that the antibacterial activity of ZnO nanoparticles is inversely proportional to their size. The inhibition of growth of *Staphylococcus aureus* was observed in the presence of 6 mM ZnO nanoparticles of various sizes from 12 to 307 nm. In addition, the viability of *Staphylococcus aureus* cells was determined by reseeded from ZnO nanoparticles growing in the presence of 6 mM nanoparticles with sizes from 12 to 307 nm cells to a medium without nanoparticles. It was noted that the viability of cells decreased significantly with a decrease in the size of ZnO nanoparticles [14].

Table 1.1 presents examples of the dependence of the antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles on particle size [20].

Table 1.1 - The dependence of the antimicrobial activity of nanoparticles of zinc oxide on the particle size (Shi et al. [20])

The particle size (nm)	Test-organism	Link
100, 800	<i>Escherichia coli</i>	Yamamoto (2001)
12, 45, 2000	<i>Escherichia coli</i>	Padmavathy and Vijayaraghavan (2008)
12–307	<i>Staphylococcus aureus</i>	Raghupati et al. (2011)
50–70	<i>Staphylococcus aureus</i>	Jones et al. (2008)
230, 2417	<i>Escherichia coli</i>	Zhang et al. (2007)

Many researchers have shown that the antibacterial effect of ZnO nanoparticles depends not only on the particle size, but also on their concentration. For example, Jalal et al. found that increasing the concentration of nanoparticles shows an increase in antibacterial activity against *Escherichia coli* due to an increase in the amount of H₂O₂ generated from the ZnO surface [21]. Wahab et al. investigated the antibacterial activity of ZnO nanoparticles and determined that the growth rate of inhibition of strains increases with an increase in the concentration of ZnO nanoparticles from 5 to 45 µg/ml⁻¹ [22]. Xie et al. found that the minimum inhibitory concentration of ZnO nanoparticles about 30 nm in size for *Campylobacter jejuni* is 0,05–0,25 mg /ml⁻¹, and for *Staphylococcus enteric* and *Escherichia coli* O157: H7 0,4 mg/ml⁻¹ [15]. Raghupati et al. and Jones et al., observed a difference in the antibacterial activity of ZnO nanoparticles of different concentrations for different *Staphylococcus aureus* strains [14, 17].

Yamamoto et al. showed that a powder of ZnO nanoparticles consisting of nanospherical particles with an average diameter of about 30 nm had a high antibacterial activity. The antibacterial activity of such a powder increased with increasing values of the lattice constant in the hexagonal structure of the nano-ZnO powder. The formation of H₂O₂ in all nano-ZnO samples promoted the emergence of antibacterial activity, the increase in values in the hexagonal structure increases the occurrence of H₂O₂ [23]. Ohira and Yamamoto studied the relationship between antibacterial activity and the size of ZnO crystals. As a result, it was found that Zn²⁺ ions more elute from ZnO nanoparticles having a small crystallite size, which leads to higher antibacterial activity [24].

Many studies have been aimed at studying the antibacterial activity of ZnO against Gram-positive and Gram-negative bacteria. It was found that ZnO nanoparticles have a higher activity against Gram-positive bacteria than against Gram-negative bacteria [15, 17]. Kim and An evaluated the effect of ZnO nanoparticles on the growth of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. It was found that EC50 (half-maximal effective concentration) on *Escherichia coli* was observed at a concentration of nano-ZnO of 80 mg /l⁻¹. The results of viewing the images showed that the reflectors found in the *Escherichia coli* culture are presumably formed as a result of cell necrosis under the influence of ZnO nanoparticles. Nevertheless, in the culture of *B. subtilis*, similar reflectors were not found. Researchers suggested that the reason may be, probably, the difference in the structure of the cell membranes. The cell wall of Gram-positive bacteria consists of a peptidoglycan layer with teichoic and lipoteichoic acid [25]. The cell wall of Gram-negative bacteria has an outer membrane, which mainly consists of a lipopolysaccharide and a thin layer of peptidoglycan [26]. Thus, the outer membrane of Gram-negative bacteria makes it possible to reduce the damage from ZnO nanoparticles. Applerot et al. show the opposite in their studies: Gram-negative *Escherichia coli* showed a higher susceptibility to ZnO nanoparticles compared to gram-positive *Staphylococcus aureus*. However, the researchers explain this by the fact that the cause may be a different content of intracellular

antioxidants, such as carotenoid pigments, as well as the presence of potent detoxification agents, such as antioxidant enzymes of bacteria [27].

There are studies that examine the antibacterial activity of ZnO nanoparticles in combination with other antibacterial agents, such combinations have a higher activity than unbound ZnO nanoparticles. Gordon et al. combined ZnO nanoparticles with iron oxide to produce magnetic nanoparticles with antibacterial activity. The results showed that the antimicrobial effect of the combined nanoparticles depends on the mass ratio of Zn/Fe, i.e., the higher the ratio, the higher the antibacterial activity [28]. Fang et al. the effect of aluminum-doped zinc oxide nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonads (in particular, *Pseudomonas chlororaphis* O6 and *Pseudomonas Putida* KT2440). The results of the study showed that aluminum-doped ZnO nanoparticles directly affect the metabolism of pseudomonads and entail such effects as: temporary loss of activity, decrease in the level of heteroauxin, fluorescent siderophore and phenazine [29].

The exact mechanism of toxicity of ZnO nanoparticles has not yet been elucidated. However, this did not prevent some authors from offering some antibacterial mechanisms of the action of ZnO nanoparticles, for example, the formation of a reactive form of oxygen (ROS), the interaction of nanoparticles with bacteria leading to damage to bacterial cells, and the release of Zn^{2+} [21, 30]. Many studies show that ROS formation is the main antibacterial mechanism of nano-ZnO [18, 19, 21, 28]. Such studies show that ZnO nanoparticles in an aqueous solution can produce various ROS, for example, hydroxyl radicals, singlet oxygen or superoxide anion, hydrogen peroxide (H_2O_2). Hydroxyl radicals and singlet oxygen cannot penetrate into the cell membranes, but hydrogen peroxide can easily penetrate the cell [19]. The ROS formation depends directly on the surface area of the ZnO nanoparticle, i.e. the higher the surface area, the higher the ROS formation [17, 19].

Another mechanism that explains the antimicrobial effect of ZnO nanoparticles is associated with damage to the bacterial surface [15, 22, 31, 32,

33]. Zhang et al. found that the presence of ZnO nanoparticles leads to damage to the *Escherichia coli* cell membrane. Electrochemical measurements have shown that such an effect can arise due to direct interactions between ZnO nanoparticles and the cell membrane at high concentrations of nanoparticles [31]. In another work, these authors indicated that strong binding between nanoparticles and the surface of bacteria occurs due to electrostatic forces and leads to damage to cell membranes [32].

Xie et al. Observed that morphological changes occur in the interaction between ZnO and *Campylobacter jejuni* nanoparticles, as well as leakage of intracellular contents [15]. Damage to cell membranes by the interaction of ZnO nanoparticles and bacteria, which leads to the leakage of cellular contents, was also noted by Wahab et al using the typical bio-TEM technology. Using the bio-TEM images obtained, a possible mechanism for the interaction of ZnO nanoparticles with cell membranes was proposed: initially, nanoparticles attach to the outer membrane of the cell, resulting in pits in the cell wall, followed by breakdown of the outer cell membrane [22].

Thus, it can be concluded that the direct interaction between ZnO nanoparticles and the bacterial surface, as well as the formation of ROS, leads to damage to the cell membrane.

Effect of nanoparticles of platinum on microorganisms

It is known that platinum reduces the biological activity of microorganisms, interacting with their enzymes, proteins or DNA, thereby inhibiting cell division. Platinum binds to the bacterial cell, changing the functionality of the cell membrane, thus preventing bacterial regeneration, which ultimately leads to cell death [34].

There are studies showing the presence of antimicrobial activity in nanoparticles of platinum. Polish researchers (Sawosz et al.) added nano-Pt hydrocolloids directly to the suspension of *Salmonella Enteritidis* and *Listeria monocytogenes*. Studies of morphological changes using electron microscopy have

shown that Pt nanoparticles penetrate the cells of *Listeria monocytogenes*, but they are removed from the cells after they have been washed. In the case of *Salmonella Enteritidis*, the nano-Pt hydrocolloids were fixed inside bacterial cells, indicating a high probability of binding nanoparticles to bacterial cell DNA. Even after washing and centrifugation of the cells, particles of the nano-Pt-DNA complex *Salmonella Enteritidis* were detected in them. The average number of bacterial cells containing nano-Pt hydrocolloids did not change even after prolonged incubation, which indicates that the obtained complexes of nano-Pt-DNA of *Salmonella Enteritidis* are stable [35].

Muthu et al. used cell-based mass spectrometry (CP-MS) for the biosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Saccharomyces cerevisiae* cells. To increase the sensitivity of the method, platinum nanodots were used. The results of the study showed that the nanodots of platinum are able to linger both inside *Chlamydomonas reinhardtii* cells and in *Saccharomyces cerevisiae* cells. Detection of CP-MS for yeast cells was less effective than *Chlamydomonas reinhardtii*, the authors argue that *Chlamydomonas reinhardtii* cells are about 3 times larger than *Saccharomyces cerevisiae* cells [36].

Sawosz et al. in another paper considered the interaction of nano-Pt hydrocolloids with suspensions of *Staphylococcus aureus* bacteria and yeast *Candida albicans* [37]. Studies have shown that when nano-Pt is added to the *Staphylococcus aureus* suspension, the cell wall and cytoplasmic membranes are destroyed and the cell content (cytoplasm) flows out. Also, the hydrocolloids of nano-Pt cause the destruction of cytoplasmic membranes in *Candida albicans* – in this case also a leakage of some substances from the cell. Thus, colloids of nano-platinum have a lethal effect for *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* [37]. Rezaei-Zarchi has shown that platinum oxide nanoparticles also have a bactericidal action against *Pseudomonas stutzeri* and *Lactobacillus* species [38].

Gopal et al. investigated the bacterial toxicity of Pt nanoparticles with different sizes on *Pseudomonas aeruginosa*. Bacteriotoxicity properties have been studied in many analytical methods, including the method of counting on an agar

medium, the study of a laser desorption/ionization mass spectrometry matrix (MALDI-MS), fluorescence microscopy and fluorescence sensitive methods. The results showed that Pt nanoparticles, whose size is less than 3 nm, have pronounced bacteriotoxic properties. At the same time, large particle sizes (6–8 nm and 16–18 nm) do not have a toxic effect, but, in most cases, stimulate the increased growth of bacteria [39]. Pan and co-authors came to a similar result, studies of which showed that 1–2 nm particles were highly toxic and that nanoparticles larger than 15 nm were not toxic [40]. Pelka et al. investigated the effect on DNA of Pt nanoparticles measuring 20 nm, < 100 nm, and > 100 nm. The results showed that Pt nanoparticles 20 nm in size has a pronounced effect on DNA compared to larger particle sizes [41].

There is a possibility that smaller Pt nanoparticles interact with bacterial cells much more easily than larger particles. In addition, it can be assumed that, since the pore size of the bacterial cell membrane is several nanometers, access for spherical nanoparticles of small size in a bacterial cell is simpler than for larger Pt nanoparticles. Accordingly, after the penetration of such nanoparticles into cells, it becomes possible to interact with molecules inside the cell, especially with DNA, which leads to cell destruction [39].

Konieczny and co-authors determine the antimicrobial properties of Pt nanoparticles against Gram-negative (*Escherichia coli*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) bacteria. Both strains were treated with two concentrations (2 and 20 µg/ml) of Pt nanoparticles of two sizes (5,8 nm and 57 nm). The inhibition of viability was significant and depended on the concentration only in the case of the interaction of *Escherichia coli* with the smallest nanoparticles. It should be noted that significant inhibition of growth was observed already at a concentration of Pt 2 µg/ml nanoparticles and was approximately 66,5 % ± 10,1 % of the control cells. In the case of larger Pt nanoparticles, a decrease in survival of *Escherichia coli* was observed only at the highest concentration used in the study (20 µg/ml) and was estimated at 70 % of the control cells. The data obtained for *Staphylococcus aureus* on Pt nanoparticles of

5,8 nm size were not significant. Large nanoparticles (57 nm) do not possess antimicrobial properties in relation to *Staphylococcus aureus*. The obtained data showed the differentiation of antimicrobial potential of Pt nanoparticles [42].

Interaction of platinum nanoparticles with Gram-positive bacteria was also studied by other groups of scientists. Faheem et al. Used functionalized Pt nanoparticles to determine the possibility of improving the sensitivity of the MALDI-MS method. Pt nanoparticles were attached to the surface of Gram-positive *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* to improve the sensitivity of the method. The study also showed that nonfunctionalized Pt nanoparticles do not attach to the surface of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus subtilis* [43].

Antibacterial ability of platinum, in addition, is also used to purify soils contaminated with pathogenic microorganisms, using photocatalysis. For example, platinum-containing titanium dioxide nanoparticles (TiO₂-Pt) exhibit significantly higher bactericidal activity than other tested samples, including UV-sensitive photocatalysts. The results of the study by Tseng and co-authors showed that the photocatalytic substrates of TiO₂-Pt significantly (by more than 50%) reduce the viability of microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* and *Streptococcus pyogenes* [44].

Zhao and colleagues in their studies compared the effects of Pt, Au and AuPt nanoparticles on the following microorganisms: *Escherichia coli*, the multidrug-resistant form of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Salmonella choleraesuis*. Studies have shown that pure Au nanoparticles or pure Pt nanoparticles themselves are not antibiotics and, in addition, do not have a negative effect on the mammalian organism. The antibiotic mechanisms of the complex of AuPt nanoparticles include the rupture of the internal bacterial membrane (which breaks the integrity of the bacteria) and the increase in intracellular levels of ATP, but do not include the generation of reactive oxygen species [45].

In the studies of Luschaeva I.V. and Morgalev Y.N., the effect of platinum nanoparticles on the processes of nitrogen fixation and nitrification in sod-podzolic

soils, gray slightly aerated soils, gray-humus soils and in dark gray soils was studied. The results of the experiment showed that the platinum nanoparticles in the humus horizons of the subtaiga soils do not have the same effect on the processes of nitrogen fixation and nitrification of different arable horizons. In addition, it was found that aqueous dispersions at a concentration of 2,5 mg/l lead to a decrease in the total microbial number in all humus horizons, as well as suppression of the processes of nitrogen fixation and nitrification in loamy horizons [46].