

УДК 579.695

**Т. В. Гудзенко, И. П. Конуп, О. В. Волювач, Н. Н. Чабан,
Е. Г. Горшкова, Т. А. Беляева, Н. Б. Галкин**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
тел.: +38(068) 259 33 08, e-mail: tgudzenko@ukr.net

ДЕСТРУКЦИЯ ФЕНОЛА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПОЛИВИДОВОЙ БИОПЛЕНКИ НА ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ НОСИТЕЛЯХ В БИОФИЛЬТРЕ

Цель. Определить эффективность процесса очистки воды от фенола микроорганизмами-деструкторами при формировании поливидовой биопленки на природных и синтетических носителях в биофилт্রে. **Методы.** В работе использовали ассоциацию бактерий-деструкторов фенола – *Aeromonas ichthiosmia* ONU552, *Bacillus subtilis* ONU551, *Pseudomonas maltophilia* ONU329, *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *Pseudomonas ceracia* ONU327. Окрашивание сформированных биопленок осуществляли 1% раствором акридинового оранжевого. Микроскопию образцов проводили под флуоресцентным микроскопом Primo Star PC и световым микроскопом Carl Zeiss при увеличении $\times 900$, фотографировали с использованием камеры Olympus DCM (3,0 M pixels). Концентрацию фенола в воде определяли экстракционно-фотометрическим методом с использованием 4-аминоантипирина. **Результаты.** Методом флуоресцентной микроскопии подтверждено, что используемые для очистки воды бактерии-деструкторы фенола образовывали биопленку в биофилт্রে на носителях разной природы – керамических трубках, створках мидий, торфе, цеолите, активированном угле, синтетическом носителе типа ВИЯ, песке. В лабораторных условиях подтверждена эффективность работы колонночного биофилтра периодического действия проточно-восходящего типа с послойной комплексной загрузкой сорбентов при очистке фенол-содержащей воды (исходная концентрация фенола – 300 мг/л). Через 2 часа работы биофилтра степень очистки воды составляла 40% (остаточная концентрация фенола в воде $180 \pm 17,2$ мг/л), что было связано с сорбцией фенола на носителях, в процессе биодеградации она достигала 90% (остаточная концентрация фенола в воде – $29,5 \pm 2,8$ мг/л) на 6-ой день. В последующие дни эффективность работы биофилтра при непрерывном поступлении загрязненной фенолом воды была на уровне 50-75%, и в стационарно-циклическом режиме достигала 80-90% (концентрация фенола в воде варьировала от $29,5 \pm 2,8$ до $60 \pm 5,7$ мг/л). **Вывод.** Новый микробный консорциум образует на природных и синтетических носителях филтра биопленку, что способствует эффективной очистке воды от фенола и продолжительности работы биофилтра проточного типа (до 2 мес) без дополнительной регенерации.

Ключевые слова: очистка воды, бактерии-деструкторы фенола, биофилтр, биопленка, флуоресцентная микроскопия.



На сегодняшний день существенными загрязнителями водных экосистем являются фенол и его производные как побочные продукты предприятий нефтехимического комплекса, угольной и химической промышленности, производства фармацевтических препаратов, в связи с их токсичностью, устойчивостью и способностью накапливаться в окружающей среде [8]. Источниками поступления фенолов в природные водные объекты являются стоки производства фармацевтических препаратов, красителей, пестицидов, фенолформальдегидных смол и неионогенных поверхностно-активных веществ, предприятий нефтехимического комплекса, угольной промышленности, машиностроения, химической промышленности [13].

Для предотвращения негативного влияния и защиты окружающей среды от загрязнения токсичными ароматическими соединениями, в том числе фенольными, применяют биотехнологический метод с использованием прикрепленных к разным носителям микроорганизмов-деструкторов фенола [9, 10]. Преимущества иммобилизованных микроорганизмов-деструкторов в биотехнологических процессах очистки воды от органических поллютантов подробно описаны [12, 15]. Разработка биокаталитических систем привлекательна тем, что иммобилизация не оказывает стрессового влияния на клетки, носитель защищает их от прямого воздействия токсичных веществ и неблагоприятных факторов среды, повышается окислительная активность микробных клеток и эффективность очистки сточных вод [5, 14].

Микроорганизмы, обмениваясь друг с другом веществами, энергией, и как все живые организмы на нашей планете, подчиняются законам термодинамики, смысл которых сводится к высокой упорядоченности своих компонентов с целью сохранения определенного уровня энергии для противостояния энтропии, т.е. необратимому рассеиванию. Поэтому они вступают в различные симбиотические связи, позволяющие им выжить в разных условиях. Примером таких связей является образование биопленок (biofilms) на разных поверхностях. Биоплёнки представляют собой сообщества клеток микроорганизмов которые формируются на границе раздела фаз. Клетки в составе биоплёнок заключены в полимерный матрикс, в состав которого входят все классы биополимеров, с преобладанием различных полисахаридов [6].

Существует достаточно большое количество методов, позволяющих провести визуализацию сформировавшихся бактериальных пленок [2, 3]. К методам, которые визуализируют ультраструктуру микробных сообществ, можно отнести электронную микроскопию и конфокальную лазерную сканирующую микроскопию (CLSM). Другие методы основаны на сорбции молекул специфического красителя на структурах биопленки, с последующей их отмывкой (десорбцией). Такой способ индикации биопленок наиболее часто используется в статических методах культивирования микробных биопленок и позволяет дать условную количественную характеристику образовавшимся микробным сообществам, т.е. чем больше образуется матрикс биопленки, тем больше красителя сорбируется на его поверхности [11].

Цель работы – определить эффективность процесса очистки воды от фенола микроорганизмами-деструкторами при формировании поливидовой биопленки на природных и синтетических носителях в биофилт্রে.



Материалы и методы

В работе использовали ассоциацию из 5 штаммов бактерий-деструкторов фенола: *Aeromonas ichthiosmia* ONU552 и *Bacillus subtilis* ONU551 (выделены из сточной воды фармацевтического завода), *Pseudomonas maltophilia* ONU329 и *Pseudomonas fluorescens* ONU328 (выделены из морской воды), *Pseudomonas cepacia* ONU327 (выделен из почвы).

Для загрузки фильтра использовали легкодоступные, дешевые природные сорбенты – цеолит, створки мидий, песок, активированный уголь, торф верховой; и синтетические сорбенты – керамические трубки, синтетический носитель типа «ВИЯ» ТУ995990 [16]. Для экспериментов использовали цеолит с размером гранул 0,3–0,7 см; створки мидий с размером пластин 0,5–1,0 см; размер гранул активированного угля 3–4 мм; размеры керамических трубок: диаметр 8 мм, длина 10 мм, толщина стенок 1,5 мм.

Все сорбенты для загрузки фильтра и дальнейшей иммобилизации на них ассоциации микроорганизмов – деструкторов фенола подготавливали соответствующим образом. Синтетический носитель типа «ВИЯ» и торф верховой стерилизовали в течение 30 мин в автоклаве при 1 атм. Цеолит, песок речной, створки мидий сначала отмывали от мелкодисперсной фазы, затем стерилизовали в жаровом шкафу при температуре 180 °С; створки мидий обрабатывали при более высокой температуре 250–300 °С для выжигания органической фазы.

Для инокуляции загрузки биофильтра бактерии-деструкторы культивировали при температуре 28 °С в течение 2-х дней на среде М9 следующего состава (г/л): Na_2HPO_4 – 6; KH_2PO_4 – 3; NH_4Cl – 1; NaCl – 0,5 – 2; пептон 10,0; глюкоза – 0,2.

Иммобилизацию бактерий – деструкторов на носителях в фильтре колоночного типа осуществляли при температуре 28 °С в течение 2-х дней, после чего остатки бактериальной суспензии сливали, а загрузку биофильтра трижды промывали от неприсоединенных клеток бактерий минеральной средой М9 без добавления пептона и глюкозы.

Все используемые сорбенты помещали в один фильтр. Многоуровневое распределение сорбентов (цеолит, створки мидий, синтетический носитель типа ВИЯ, активированный уголь, торф, керамические трубки, песок) в колоночном фильтре способствовало быстрому приросту микробиологического сообщества.

Перед процессом очистки воды от фенола в био фильтре была достигнута концентрация биомассы 1×10^9 кл/г носителя. Биофильтр инокулировали в течение 2-х суток, пропуская через него бактериальную суспензию (скорость протока 3 мл/мин) с концентрацией 1×10^{12} кл/мл. После окончания инокуляции количество оставшихся клеток в инокуляте составляла 10×10^3 кл/мл, таким образом на носителях биофильтра адсорбировалось 1×10^9 кл/г. Порционный объем загрязненной фенолом воды, проходящей через биофильтр объемом 500 мл, составлял 230 мл.

После 10-дней использования проточного биофильтра для очистки фенолсодержащих вод носители были извлечены из реактора и обработаны 96% этанолом для фиксации биопленок. Затем носители окрашива-



ли погружением в 1% раствор акридинового оранжевого (3,6-акридиндиамин-N,N,N',N'-тетраметил) на 4 минуты, промывали водой и подсушивали на предметных стёклах [1].

Микроскопию образцов проводили с использованием флуоресцентного микроскопа Carl Zeiss и светового микроскопа Primo Star PC при увеличении 10×40, фотографировали с использованием камеры Olympus DCM (3,0 M pixels). Контролем служили стерильные носители и фиксированные мазки вышеперечисленных штаммов бактерий, обработанные 1% акридиновым оранжевым.

Эффективность процесса очистки воды от фенола биофильтром проточного типа оценивали по уравнению:

$$\alpha = [(C_0 - C) / C_0] \times 100\%, \quad (1)$$

где C_0 и C – концентрации фенола в воде до (300 мг/л) и после обработки.

Концентрацию фенола определяли фотоколориметрическим методом, основанным на образовании окрашенных соединений фенола с 4-аминоантипирином в присутствии гексацианоферрата (III) при pH = 10,0 ± 0,2 [7].

Проводили три серии испытаний, n=3. Достоверность различий между средними значениями остаточной концентрации фенола в воде определяли по критерию Стьюдента на уровне значимости не менее 95% ($p \leq 0,05$). Обработку данных осуществляли с использованием программы «Microsoft Office Excel 2003».

Результаты и их обсуждение

В результате исследований установлено, что на различных носителях биоплёнка образуется в разных объемах. Сравнительный анализ показал, что на песке и синтетическом носителе типа «ВИЯ» [16] иммобилизация бактерий-деструкторов фенола *A. ichthiosmia* ONU552, *B. subtilis* ONU551, *P. maltophilia* ONU329, *P. fluorescens* ONU328, *P. cepacia* ONU327 была слабо-выраженной, биопленка не формировалась.

Наиболее активное образование биоплёнки отмечалось на створках мидий, торфе и керамических трубках. На керамических трубках, входящих в состав комплексной загрузки действующего биореактора, формировался сплошной слой развитой биопленки ассоциации бактерий (рис. 1).

В процессе 10-дневного использования биофильтра для очистки воды от фенола адгезия бактерий и образование поливидовой биопленки регистрировалось также на торфе, цеолите и активированном угле.

Образование поливидовой бактериальной биопленки на носителях в биофильтре способствовало повышению эффективности его работы на протяжении длительного времени (2 мес.) без дополнительной регенерации и повторной инокуляции бактериями-деструкторами комплексной загрузки (рис. 2). Сохранение видового разнообразия использованной ассоциации штаммов микроорганизмов-деструкторов фенола на заключительной стадии работы биофильтра подтверждено высевом на агаризованную среду по морфологическим-культуральным и биохимическим признакам. Численность каждого из штаммов по окончании работы биофильтра достигала порядка 5×10^4 кл/г сорбента.



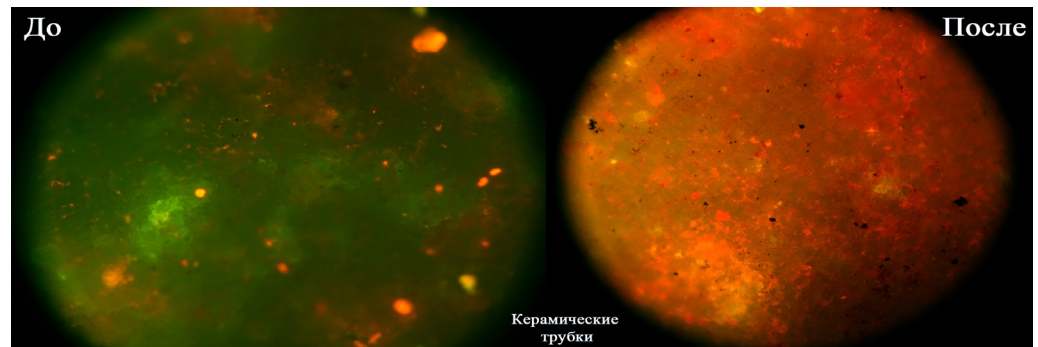


Рис. 1. Биопленка ассоциации бактерий - деструкторов фенола на керамических трубках до и после инокуляции загрузки биофильтра. Окраска акридиновым оранжевым, увеличение 10x40

Fig. 1. Biofilm of bacteria – the destructors of phenol on the ceramic tubes before and after inoculation of the biofilter. Coloring with acridine orange, the increase of 10x40

В лабораторных условиях исследована эффективность работы колонного биофильтра периодического действия проточно-восходящего типа с послойной модифицированной комплексной загрузкой при очистке фенол-содержащей воды (исходная концентрация фенола 300 мг/л).

Через 2 часа работы биофильтра со скоростью 10 мл/мин степень очистки воды от фенола в динамическом режиме составляла 40% (остаточная концентрация фенола в воде $180 \pm 17,2$ мг/л), что было связано с сорбцией фенола на носителях (рис. 2, А). Через сутки работы биофильтра в стационарно-циклическом режиме степень очистки воды повышалась до 67% (остаточная концентрация фенола в воде – $100 \pm 8,5$ мг/л), а на 6-ой день достигала максимального значения – 90% (остаточная концентрация фенола в воде – $29,5 \pm 2,8$ мг/л) (рис. 2, Б).

В последующие дни эффективность работы биофильтра в динамическом режиме при непрерывном поступлении загрязненной фенолом воды была на уровне 50–75%, а в стационарно-циклическом режиме достигала 80–90%, концентрация фенола в воде варьировала от $29,5 \pm 2,8$ мг/л до $60 \pm 5,7$ мг/л (рис. 2, Б).

Полученные данные свидетельствуют о том, что основной механизм удаления фенола из загрязненной воды – это биодegradация его иммобилизованными микроорганизмами (*A. ichthiosmia* ONU552, *B. subtilis* ONU551, *P. maltophilia* ONU329, *P. fluorescens* ONU328, *P. ceracia* ONU327).

Методом флуоресцентной микроскопии с использованием красителя акридинового оранжевого подтверждено, что используемые в опытах бактерии-деструкторы фенола образовывали биопленку на носителях разной природы. На первом этапе происходила адгезия вегетативных форм бактерий, в последующем – формирование межклеточного матрикса биопленок. Можно полагать, что в период времени между 0,5 и 6 ч в биопленочной культуре происходил переход стадии адгезии клеток к началу формирования внеклеточного матрикса биопленки. При использовании керамических трубок в виде

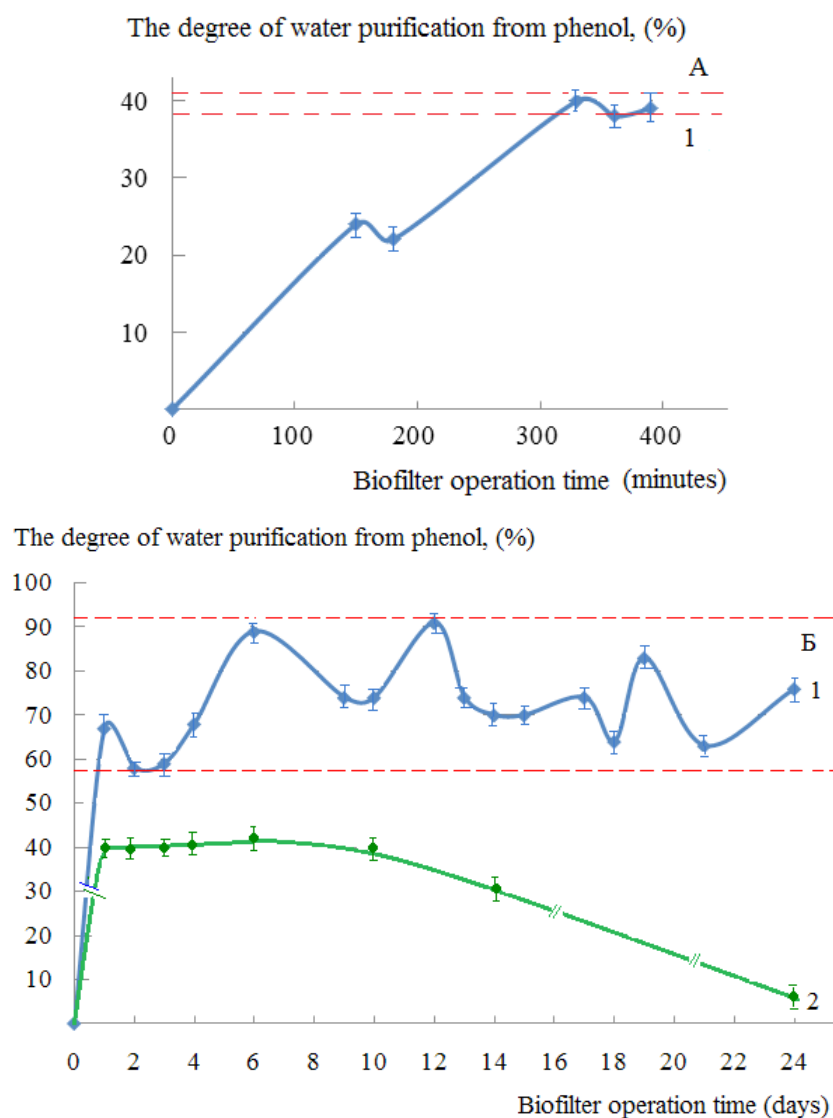


Рис. 2. Степень очистки фенол-содержащей воды в фильтре с иммобилизованными бактериями – деструкторами (1); нативными сорбентами (2)
 Примечание: исходная концентрация фенола в воде – 300 мг/л

Fig. 2. The degree of purification of phenol-containing water in the filter with immobilized bacteria - destructors (1); native sorbents (2)
 Note: the initial concentration of phenol in water is 300 mg / l

колец, торфяных волокнистых структур биопленка, заполнившая петлеобразные структуры загрузки увеличивает ее рабочую поверхность, приобретает двухсторонний контакт с очищаемой водой, что увеличивает эффективность очистки воды от фенола.

Результаты наших исследований согласуются с данными работы [4], авторы которой наблюдали рост микроорганизмов на порошково-волокнистой

загрузке биофильтра. Ими также проведено исследование модифицированной загрузки биофильтра для интенсификации очистки локальных сточных вод и показано, что в петлеобразных структурах загрузки бактериальная пленка образует мостики, что говорит о направленном росте сообщества микроорганизмов, формирующих матрикс к противоположной стороне петли. Такое распределение бактерий в матриксе биопленки на полимерном петлеобразном материале, способствует синтезу РНК, и, следовательно, ведет к повышению метаболизма биопленки в целом.

Таким образом, микробный консорциум (*A. ichthiosmia* ONU552, *B. subtilis* ONU551, *P. maltophilia* ONU329, *P. fluorescens* ONU328, *P. cepacia* ONU327) образует на природных и синтетических носителях фильтра биопленку, что способствует повышению эффективности очистки воды от фенола (75–90%) и увеличению продолжительности работы биофильтра проточного типа (до 2 мес) без дополнительной регенерации.

Методом флуоресцентной микроскопии с использованием красителя акридинового оранжевого подтверждено, что используемые в опытах бактерии (*A. ichthiosmia* ONU552, *B. subtilis* ONU551, *P. maltophilia* ONU329, *P. fluorescens* ONU328, *P. cepacia* ONU327) – деструкторы фенола образовывали биопленки на носителях разной природы.

В лабораторных условиях подтверждена эффективность работы колонного биофильтра периодического действия проточно-восходящего типа с послойной модифицированной комплексной загрузкой при очистке фенол-содержащей воды (исходная концентрация фенола – 300 мг/л). Через 2 часа работы биофильтра степень очистки воды от фенола составляла 40% (остаточная концентрация фенола в воде $180 \pm 17,2$ мг/л), через сутки – 67% (концентрация фенола в воде – $100 \pm 8,5$ мг/л) и достигала максимального значения 90% (концентрация фенола в воде $29,5 \pm 2,8$ мг/л) на 6-ой день очистки.

Ассоциация бактерий *A. ichthiosmia* ONU552, *B. subtilis* ONU551, *P. maltophilia* ONU329, *P. fluorescens* ONU328, *P. cepacia* ONU327 может быть использована для очистки фенол-содержащих сточных вод в биофильтре.

**Т. В. Гудзенко, І. П. Конуп, О. В. Волювач, М. М. Чабан,
О. Г. Горшкова, Т. О. Беляєва, М. Б. Галкін**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: 068 259 33 08, e-mail: tgudzenko@ukr.net

ДЕСТРУКЦІЯ ФЕНОЛУ ПРИ ФОРМУВАННІ ПОЛІВИДОВОЇ БІОПЛІВКИ НА ПРИРОДНИХ І СИНТЕТИЧНИХ НОСІЯХ У БІОФІЛЬТРАХ

Реферат

Мета. Визначити ефективність процесу очищення води від фенолу мікроорганізмами-деструкторами при формуванні полівидової біоплівки на природних і синтетичних носіях в біофільтрі. **Методи.** У роботі використовували асоціацію бактерій-деструкторів фенолу – *Aeromonas ichthiosmia* ONU552,



Bacillus subtilis ONU551, *Pseudomonas maltophilia* ONU329, *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *Pseudomonas cepacia* ONU327. Забарвлення сформованих біоплівки здійснювали 1% розчином акридинового помаранчевого. Мікроскопію зразків проводили під флуоресцентним мікроскопом Carl Zeiss і світловим мікроскопом Carl Zeiss, Primo Star з фото-фіксацією. Концентрацію фенолу у воді визначали екстракційно-фотометричним методом з використанням 4-аміноантипірину. **Результати.** Методом флуоресцентної мікроскопії підтверджено, що використані для очищення води від фенолу бактерії-деструктори утворювали біоплівку в біофільтрі на носіях різної природи – керамічних трубках, мушлях мідій, торфі, цеоліті, активованому вугіллі, синтетичному носії типу «ВІА», піску. У лабораторних умовах доведено ефективність роботи колоночного біофільтра періодичної дії проточно-вихідного типу з пошаровим комплексним завантаженням сорбентів при очищенні фенол-вмісної води (вихідна концентрація фенолу – 300 мг/л). Через 2 години роботи біофільтра ступінь очищення води становив 40% (залишкова концентрація фенолу у воді $180 \pm 17,2$ мг/л), що було пов'язано з сорбцією фенолу на носіях, в процесі біодеструкції вона сягала 90% (залишкова концентрація фенолу у воді – $29,5 \pm 2,8$ мг/л) на 6-ий день. У наступні дні ефективність роботи біофільтра при безперервному надходженні забрудненої фенолом води була на рівні 50–75%, і в стаціонарно-циклічному режимі сягала 80–90% (концентрація фенолу у воді варіювала від $29,5 \pm 2,8$ мг/л до $60 \pm 5,7$ мг/л). **Висновок.** Новий мікробний консорціум утворює на природних і синтетичних носіях фільтра біоплівку, що сприяє ефективному очищенню води від фенолу і тривалості роботи біофільтра проточного типу (до 2 міс) без додаткової регенерації.

Ключові слова: очищення води, бактерії - деструктори фенолу, біофільтр, біоплівка, флуоресцентна мікроскопія

**T. V. Gudzenko, I. P. Konup, O. V. Voliuvach, M. M. Chaban,
O. G. Gorshkova, T. O. Belyaeva, M. B. Galkin**

Odesa National I. I. Mechnykov University,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine;
tel.: 068 259 33 08, e-mail: tgudzenko@ukr.net

DESTRUCTION OF PHENOL AT THE FORMATION OF POLYVIDIOUS BIOFILM ON NATURAL AND SYNTHETIC CARRIERS IN THE BIOFILTER

Summary

Aim. To determine the effectiveness of the process of water purification from phenol by microorganisms-destroyers in the formation of a polyvidiofilm biofilm on natural and synthetic carriers in a biofilter. **Methods.** An association of phenol bacterium destroyers — *Aeromonas ichthiosmia* ONU552, *Bacillus subtilis* ONU551, *Pseudomonas maltophilia* ONU329, *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *Pseudomonas cepacia* ONU327 was used. Stained biofilms were stained with 1% acridine orange solution. Microscopy of the samples was carried out under a Carl Zeiss fluorescence microscope and a Carl Zeiss, Primo Star light



microscope with photo fixation. The concentration of phenol in water was determined by the extraction-photometric method using 4-aminoantipyrin. **Results.** Using fluorescence microscopy, it was confirmed that bacteria used for purification of water from phenol - destructors formed a biofilm in a biofilter on carriers of different nature – ceramic tubes, mussel valves, peat, zeolite, activated carbon, synthetic media such as "VIYA", sand. In laboratory conditions, the effectiveness of the operation of a column-based biofilter of flow-up-stage type with layer-by-layer complex loading of sorbents during purification of phenol-containing water (initial concentration of phenol – 300 mg/l) was confirmed. After 2 hours of the biofilter operation, the degree of water purification was 40% (residual phenol concentration in water 180 ± 17.2 mg/l), which was associated with phenol sorption on carriers; during biodegradation, it reached 90% (residual phenol concentration in water – 29.5 ± 2.8 mg/l) on the 6th day. In the following days, the efficiency of the biofilter with continuous intake of phenol-contaminated water was at the level of 50–75%, and in the stationary-cyclic mode reached 80–90% (the concentration of phenol in the water varied from 29.5 ± 2.8 to 60 ± 5.7 mg/l). **Conclusion.** The new microbial consortium forms a biofilm on natural and synthetic filter carriers, which contributes to the effective purification of water from phenol and the flow-through biofilter operation time (up to 2 months) without additional regeneration.

Key words: water purification, bacteria - phenol destructors, biofilter, biofilms, fluorescence microscopy

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биопленки: основные методы исследования: учебно-методическое пособие / Марданова А.М. с соавт. – Казань: К(П)ФУ, 2016. – 42 с.
2. Ерохин П. С., Кузнецов О. С., Коннов Н. П., Видяева Н. А., Уткин Д. В. Комплексный подход к изучению биопленок микроорганизмов методом атомно-силовой микроскопии // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. – 2012. – Т. 12, № 1. – С. 42–46.
3. Павлова И. Б., Толмачева Г. М., Ленченко Е. М. Экспериментальное исследование процессов формирования биопленок *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (световая и сканирующая электронная микроскопия) // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2016. - №4(20). – С. 65–73
4. Пукемо М. М., Симаков Ю. Г., Алексеев Е. В. Фрактальный рост микроорганизмов на порошково-волоконистой загрузке биофильтра и интенсификацию очистки сточных вод // Инновации и инвестиции. – 2015. – № 6. – С. 181–185.
5. Серебренникова М. К. Биодegradация нефтяных углеводородов иммобилизованными родококками в колоночном биореакторе ... Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.02.03 – микробиология, Пермь – 2014. – 23 с.
6. Соколова Т. Н. Микробные биопленки и способы их обнаружения // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – № 4. – С. 12–15.
7. Фомин Г. С. Вода. Контроль химической, бактериологической и радиационной безопасности по международным стандартам: Энциклопедический



справочник. 3-изд. М., 2000. – 839 с.

8. Часова Э. В., Ивчук В. В. Эколого-химические характеристики и методы защиты окружающей среды от фенола // Вестник Криворожского национального университета. – 2013. – № 34(1). – С. 209–213.

9. Aromatic hydrocarbons removal by immobilized bacteria (*Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*) in fluidized bed bioreactor / J. Taoufik [et al] // Annals of Microbiology. – 2004. – Vol. 54, № 2. – P. 189–200.

10. Biodegradation of phenol in synthetic and industrial wastewater by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 immobilized in an air-stirred reactor with clarifier / M.B. Prieto [et al] // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2002a. – Vol. 58, № 6. – P. 853–859.

11. Camargo A. C. Biofilm formation on catheters used after cesarean section as observed by scanning electron microscopy / A.C. Camargo, E.L. Pizzolitto // International J. of Gynecology and Obstetrics. – 2005. Vol. 90. – P. 148–149.

12. Degradation of phenol by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 immobilized on Biolite in packed-bed reactor / M.B. Prieto [et al] // Journal of Biotechnology. – 2002b. – Vol. 97, № 1. – P. 1–11.

13. Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja, Olga Woljuwacz, Boris Galkin, Olga Zuk, Elena Gorszkowa. Biodegradacja fenoli i innych cyklicznych związków aromatycznych. – Publisher: GlobeEdit is a trademark of International Book Market Service Ltd., member of OmniScriptum Publishing Group, 17 Meldrum Street, Beau Bassin 71504, Mauritius. (ISBN: 978-613-8-25347-1). – 2018. – 85 p.

14. Nor Suhaila Yaacob, Rosfarizan Mohamad, Siti Aqlima Ahmad. The influence of different modes of bioreactor operation on the efficiency of phenol degradation by *Rhodococcus* UKMP-5M // Rendiconti Lincei. – 2016. – 27(4). – P. 749–760.

15. Songwen Tan, Xuncai Chen, Chunzhi Cui, Yang Hou, Weiguo Li, Hong You. Biodegradation of saline phenolic wastewater in a biological contact oxidation reactor with immobilized cells of *Oceanimonas sp.* // Biotechnology Letters – 2017. – Vol. 39, Issue 1, P. 91–96.

16. Патент України №97747. Спосіб аеробного біологічного очищення стічних вод/ Гвоздяк П.І., Глоба Л.І., Саблій Л.А., Капарник А.І., Борисенко О.О., Жукова В.С. Опубл. 12.03.2012, Бюл. №5.

References

1. Bioplenki: Biofilms: basic research methods: teaching aid / Mardanova AM. s soavt. Kazan': K(P)FU, 2016: 42 [in Russian].

2. Erohin PS, Kuznecov OS, Konnov NP, Vidjaeva NA, Utkin DV. An integrated approach to the study of microbial biofilms by atomic force microscopy. Izvestija Saratovskogo universiteta. Novaja serija. Serija: Fizika. 2012;12(1):42–46 [in Russian].

3. Pavlova IB, Tolmacheva GM, Lenchenko EM. Experimental study of the formation of biofilms *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (light and scanning electron microscopy). Problemy veterinarnoj sanitarii, gigieny i jekologii. 2016;4(20):65-73 [in Russian].

4. Pukemo MM, Simakov JuG, Alekseev EV. Fractal growth of microorgan-



isms on the powder-fiber loading of the biofilter and intensification of wastewater treatment *Innovacii i investicii*. 2015;6:181–185 [in Russian].

5. Cerebrennikova MK. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by immobilized rhodococci in a column bioreactor. *Avtoref. dis. kand. biol. nauk: 03.02.03 – mikrobiologija*, Perm' 2014:23. [in Russian].

6. Sokolova TN. Microbial biofilms and methods for their detection *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2014;4:12–15. [in Russian].

7. Fomin GS. Voda. Kontrol' himicheskoy, bakteriologicheskoy i radiacionnoj bezopasnosti po mezhdunarodnym standartam: *Jenciklopedicheskij spravochnik*. 3-izd. M., 2000:839. [in Russian].

8. Chasova JeV, Ivchuk VV. Ecological and chemical characteristics and methods of environmental protection from phenol. *Vestnik Krivorozhskogo nacional'nogo universiteta*. 2013;34(1):209–213. [in Russian].

9. Aromatic hydrocarbons removal by immobilized bacteria (*Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*) in fluidized bed bioreactor / J. Taoufik [et al]. *Annals of Microbiology*. 2004;54(2):189–200.

10. Biodegradation of phenol in synthetic and industrial wastewater by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 immobilized in an air-stirred reactor with clarifier / MB. Prieto [et al]. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2002a;58(6):853–859.

11. Camargo AC, Pizzolitto EL. Biofilm formation on catheters used after cesarean section as observed by scanning electron microscopy. *International J. of Gynecology and Obstetrics*. 2005;90:148–149.

12. Degradation of phenol by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1 immobilized on Biolite in packed-bed reactor / MB. Prieto [et al]. *Journal of Biotechnology*. 2002b;97(1):1–11.

13. Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja, Olga Woljuwacz, Boris Galkin, Olga Zuk, Elena Gorszkowa. Biodegradacja fenoli i nnych cyklicznych związków aromatycznych. - Publisher: GlobeEdit is a trademark of International Book Market Service Ltd., member of OmniScriptum Publishing Group, 17 Meldrum Street, Beau Bassin 71504, Mauritius. 2018:85.

14. Nor Suhaila Yaacob, Rosfarizan Mohamad, Siti Aqlima Ahmad . The influence of different modes of bioreactor operation on the efficiency of phenol degradation by *Rhodococcus* UKMP-5M. *Rendiconti Lincei*. 2016;27(4):749–760.

15. Songwen Tan, Xuncui Chen, Chunzhi Cui, Yang Hou, Weiguo Li, Hong You. Biodegradation of saline phenolic wastewater in a biological contact oxidation reactor with immobilized cells of *Oceanimonas sp.* *Biotechnology Letters*. 2017;39(1):91–96.

16. Patent of Ukrai'ny №97747. Method of aerobic biological treatment of sewage / Gvozdyak PI, Globa LI, Sablij LA, Kaparnyk AI, Borysenko OO, Zhukova VS. *Opubl.* 12.03.2012. *Byul.* № 5 [in Ukrainian].

Стаття надійшла до редакції 20.07.2019 р.

