

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

**Т. В. Гудзенко, В. О. Іваниця, Б. М. Галкін,  
О. В. Волювач, О. Г. Горшкова**

**МІКРОБІОЛОГІЧНІ МЕТОДИ  
ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД  
ВІД ОРГАНІЧНИХ ЗАБРУДНЮВАЧІВ**

Монографія

ОДЕСА  
ОНУ  
2020

УДК 57.083.1:574.63:504.5

M597

Рекомендовано до друку Вченою радою  
Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.  
Протокол № 2 від 29 жовтня 2019 р.

**Автори:**

**Гудзенко Т. В.**, кандидат біологічних наук, доцент кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології, провідний науковий співробітник БННЦ Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

**Іваниця В. О.**, член-кор. НАН України, доктор біологічних наук, професор кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології, проректор Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

**Галкін Б. М.**, доктор біологічних наук, професор кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології, директор БННЦ Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

**Волювач О. В.**, кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник БННЦ Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

**Горшкова О. Г.**, науковий співробітник БННЦ Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

**Рецензенти:**

**О. М. Нікіпелова**, доктор хімічних наук, професор, заступник директора з наукової роботи ДУ «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України»;

**Б. Н. Мілкус**, доктор біологічних наук, професор кафедри захисту рослин, генетики та селекції Одеського державного аграрного університету;

**В. П. Стойловський**, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри зоології Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

M597 Мікробіологічні методи очищення стічних вод від органічних забруднювачів : монографія / Т. В. Гудзенко, В. О. Іваниця, Б. М. Галкін, О. В. Волювач, О. Г. Горшкова ; Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова. – Одеса : ОНУ, 2020. – 129 с. : іл., табл.

ISBN 978-617-689-346-2

*В монографії розглянуті біологічні методи очищення стічних вод від найпоширеніших і токсичних органічних забруднювачів – фенольних сполук, нафтових вуглеводнів, синтетичних ароматичних поверхнево-активних речовин, поліциклічних ароматичних вуглеводнів. Надана загальна характеристика ксенобіотиків, їх токсичність та шляхи потрапляння у навколишнє середовище. Детально розглянуті конструкції біологічного очищення стічних вод - поля зрошення, мочари, аеротенки, метантенки, біореактори різних типів, в тому числі блочно-модульні споруди. Проведено критичний аналіз даних літератури по деструкції важкоокиснювальних сполук і представлено механізм їх біодеструкції різними родами мікроорганізмів в аеробних і анаеробних умовах.*

УДК 57.083.1:574.63:504.5

ISBN 978-617-689-346-2

© Гудзенко Т.В., Іваниця В.О., Галкін Б.М.,  
Волювач О. В., Горшкова О. Г., 2020

© Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2020

# ЗМІСТ

Перелік умовних позначень і скорочень .....	5
<b>ВСТУП</b> .....	6
<b>РОЗДІЛ 1. ДЖЕРЕЛА ЗАБРУДНЕННЯ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ВАЖКООКИСНЮВАЛЬНИМИ СПОЛУКАМИ</b> .....	8
1.1. Загальна характеристика та поширення поліциклічних ароматичних вуглеводнів у навколишньому середовищі .....	8
1.2. Шляхи потрапляння повернево-активних речовин у водні об'єкти та оцінка їх токсичності .....	10
1.2.1. Екологічна небезпека використання оксидетильованих алкілфенолів .....	12
1.2.2. Токсичність нонілфенолу .....	14
1.3. Джерела забруднення навколишнього середовища фенольними сполуками, їх токсичність .....	17
1.4. Нафтове забруднення, його вплив на навколишнє середовище .....	18
1.4.1. Токсичність нафти та продуктів її переробки .....	20
<b>РОЗДІЛ 2. СТІЧНІ ВОДИ, МЕТОДИ ТА КОНСТРУКЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО ОЧИЩЕННЯ</b> .....	25
2.1. Хімічний склад і мікробіота стічних вод .....	25
2.1.2. Промислові та господарчо-побутові води, їх очищення .....	27
2.2. Біологічні методи очищення стічних вод .....	31
2.3. Блочно-модульні споруди біологічного очищення стічних вод .....	52
<b>РОЗДІЛ 3. БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД ВІД ПОЛІЦИКЛІЧНИХ АРОМАТИЧНИХ ВУГЛЕВОДНІВ</b> .....	57
3.1. Біодеструкція поліциклічних ароматичних вуглеводнів .....	57

3.2. Вплив поверхнево-активних речовин і гумінових речовин на деструкцію поліциклічних ароматичних вуглеводнів .....	63
--	----

**РОЗДІЛ 4. БІОТЕХНОЛОГІЯ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД ВІД ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН .....** 66

4.1. Мікробіологічні способи очищення стічних вод від ароматичних поверхнево-активних речовин .....	66
4.2. Механізм біодеструкції оксигетильованих алкілфенолів .....	71

**РОЗДІЛ 5. БІОТЕХНОЛОГІЯ ОЧИЩЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ВОДНИХ РОЗЧИНІВ І СТІЧНИХ ВОД ВІД ФЕНОЛУ ТА ІНШИХ ЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК .....** 74

5.1. Деструкція фенолу та його похідних за дії мікроорганізмів .....	76
5.2. Механізм анаеробної та аеробної біодеградації фенолу мікроорганізмами .....	79

**РОЗДІЛ 6. БІОЛОГІЧНЕ ОЧИЩЕННЯ ВОДИ ВІД НАФТОВИХ ЗАБРУДНЕНЬ .....** 83

6.1. Біотехнологічне очищення води та ґрунту від вуглеводнів нафти з використанням біопрепаратів .....	85
6.2. Мікробіологічна трансформація вуглеводнів нафти .....	96

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....** 110

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ

СВ – стічні води

ПАВ – поліциклічні ароматичні вуглеводні

ПАР – поверхнево-активна речовина

ГДК – гранично-допустима концентрація

ФС – фенольні сполуки

ХФВ – хіміко-фармацевтичне виробництво

СОЗ – стійкі органічні забруднювачі

ОС – органічна сполука

ІВМ – іони важких металів

АФК – активні форми кисню

ПВ – перекис водню

ВФП – виробництво фармацевтичних препаратів

ПНФ – пара-нітрофенол

## ВСТУП

Останнім часом проблема забруднення природних об'єктів органічними відходами техногенного походження стає все більш гострою, оскільки впливає на здоров'я людей.

Господарсько-побутові стоки та різні види відходів промислових підприємств, зокрема стоки хімічного виробництва, медичні стоки, фармвиробництва, стоки нафтопереробного комплексу тощо, містять в своєму складі велику кількість фенольних та ін. токсичних важкоокиснювальних сполук – синтетичних поверхнево-активних речовин (ПАР), зокрема біологічно “жорстких” ароматичної природи (алкілбензолсульфонатів, солей гексадецилпіридинію, оксиетильованих алкілфенолів), нафтових вуглеводнів, поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ).

Перелічені вище ксенобіотики складно переробляються фізико-хімічними методами, що потребують спеціального обладнання, витрати електроенергії та додаткових реагентів, серед яких окиснювачі, здатні безконтрольовано перетворювати вихідні речовини в більш токсичні проміжні сполуки, які можуть викликати повторне забруднення навколишнього середовища.

Тому сьогодні у час розвитку новітніх біотехнологій перевага надається біологічним методам очищення стічних вод з використанням біохімічно-активних непатогенних мікроорганізмів, здатних використовувати фенольні сполуки, синтетичні ПАР, ПАВ, нафтові вуглеводні в якості єдиного джерела харчування і енергії. Мікробіологічні та біотехнологічні методи за дії спеціально підібраних мікроорганізмів-деструкторів ксенобіотиків є енергонезалежними, ефективними, можуть бути застосовані як в природних умовах (в якості прикладу наведено використання лагун, біологічних ставків, полів зрошення), так і на виробництві, де часто для очищення стічних вод із великим умістом органічних забруднювачів використовують біореактори різного типу, блочно-модульні системи біологічного очищення.

В монографії наведено принцип роботи різних типів біореакторів та ефективність використання в процесі очищення стоків мікроорганізмів у іммобілізованому стані. Розглянуто основні механізми аеробної та анаеробної деструкції фенолу та інших

ароматичних сполук різними родами мікроорганізмів. Наведено шляхи біотрансформації поліциклічних ароматичних вуглеводнів, оксигетильованих алкілфенолів за дії мікроорганізмів-де-структорів.

## РОЗДІЛ 1

### ДЖЕРЕЛА ЗАБРУДНЕННЯ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ВАЖКООКИСНЮВАЛЬНИМИ СПОЛУКАМИ

Рівень забруднення водних об'єктів навколишнього середовища органічними сполуками антропогенного походження, що володіють високою канцерогенною і мутагенною активністю, досить високий. До основних джерел забруднення відносяться побутові та промислові стічні води, в тому числі стічні води (СВ) нафтовидобувної та нафтопереробної промисловостей, хімічної галузі, виробництва синтетичних миючих засобів, хіміко-фармацевтичних виробництв (ХФВ), медичних установ тощо.

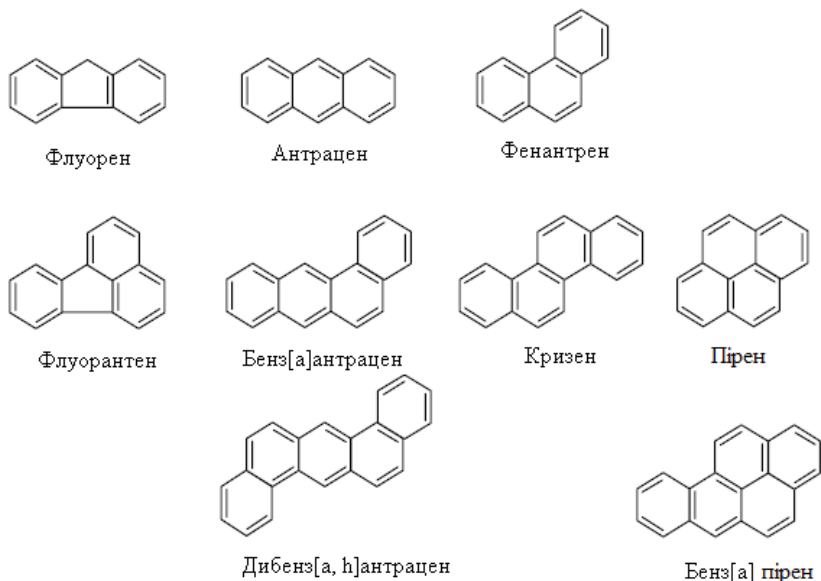
Однією з актуальних проблем охорони навколишнього середовища є очищення промислових СВ від токсичних важкоокиснювальних сполук, в тому числі поліциклічних ароматичних сполук, ароматичних поверхнево-активних речовин, фенольних сполук (фенол, гідрохінон, пірокатехін тощо) та вуглеводнів нафти.

#### **1.1. Загальна характеристика та поширення поліциклічних ароматичних вуглеводнів у навколишньому середовищі**

Поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ) – найбільш важкоокиснювальні органічні полютанти, що володіють мутагенними, тератогенними та канцерогенними властивостями; чинять негативний вплив на фізіологічний стан всіх організмів – від бактерій до людини [*International Agency for Research on Cancer.*, 1972; *Cerniglia C.E. et al.*, 1989].

Поліциклічні ароматичні вуглеводні – великий клас різноманітних органічних сполук, молекули яких складаються з трьох або більше ароматичних кілець (рис. 1).

Основним процесом, що сприяє очищенню води і ґрунту від ПАВ, є деструктивна активність щодо цих полютантів деяких мікроорганізмів [*Серебренникова М.К.*, 2014]. Окрім біоремедіації, мікробні перетворення ПАВ розглядаються в якості перспективного методу синтезу ізомерних дигідродигідрокси- і дигідрокси-фенантренив, що знайшли використання в синтезі антиалергенних і антиканцерогенних препаратів [*Бабошин М.А. и др.*, 2005].



**Рис. 1. Представники поліциклічних ароматичних вуглеводнів**  
 [Павленко М.І. та ін. 2007]

Стічні води металургійних підприємств, деревообробної промисловості, газо- і нафтопереробних заводів, зливові води і аварійні розливи нафти є основними джерелами забруднення навколишнього середовища ПАВ [Ortega-Calvo J. J., Alexander M., 1994; Hohzoh Kiyohara et al., 1976; Nie M., Nie H. et al., 2016; Kästner M., Mahro B., 1996]. Вони присутні як природні компоненти у кам'яному вугіллі та нафті, утворюються в результаті неповного згоряння органічних сполук, знаходяться у високих концентраціях в продуктах переробки викопного палива.

Внаслідок антропогенного навантаження ПАВ постійно надходять у природне середовище. Збільшення кількості ароматичних кілець і відповідно зростання молекулярної маси молекули, електрохімічної стійкості сполуки цієї групи призводить до підвищення її гідрофобності. Всі ці основні чинники обумовлюють високу стійкість високомолекулярних аренів у навколишньому середовищі, їх резистентність до розкладання під впливом фізичних, хімічних факторів або до біорозкладання. Вони

володіють високим потенціалом накопичення в навколишньому середовищі і характеризуються міграцією по трофічному ланцюгу, що пов'язано з їх гідрофобною природою [Richnow H.H. et al., 1997]. Відношення між стійкістю ПАВ у природному середовищі і збільшенням кількості ароматичних кілець збігається із співвідношенням між швидкістю їх біодеструкції і розміром молекул цих речовин [Banerjee D.K. et al., 1995].

Канцерогенні речовини, до яких відносять поліциклічні ароматичні сполуки, бензопірен особливо, спричиняють розвиток усіх видів ракових захворювань [Substances classified as carcinogenic, mutagenic and toxic for reproduction (CMR) and other substances of concern in consumer products, 2011; Risk assessment methodologies and approaches for mutagenic and carcinogenic substances, 2008].

## **1.2. Шляхи потрапляння поверхнево-активних речовин у водні об'єкти та оцінка їх токсичності**

Ароматичні ксенобіотики, до яких належать і широко розповсюджені поверхнево-активні речовини (ПАР) різної природи, зокрема N-цетилпіридиній бромистий (катіонна ПАР), оксиетильовані алкілфеноли (неіоногенна ПАР); алкілбензолсульфонати (аніонна ПАР) тощо, є важкоокиснювальними, токсичними забруднювачами навколишнього середовища. ПАР широко застосовуються більш ніж в 100 галузях промисловості, і, будучи активною основою побутових і промислових миючих засобів, у великій кількості потрапляють у водне середовище. При цьому значну частину антропогенного навантаження, що припадає на поверхневі водні об'єкти, складають ПАР-вмісні стічні води, які входять до складу всіх господарсько-побутових і більшості промислових СВ [Сопрунова О.Б. и др., 2013]. У навколишньому середовищі ПАР беруть участь в процесах перерозподілу і трансформації інших забруднюючих речовин, таких як: хлорофос, анілін, пестициди, нафтопродукти, іони важких металів (ІВМ) та ін., активізуючи їх токсичну дію [Остроумов С.А., 1991]. Навіть незначний вміст ПАР у водоймах призводить до інтенсивного піноутворення та порушення кисневого обміну, що створює несприятливі умови

для процесів природного самоочищення водних систем, погіршує санітарно-хімічні показники якості води і являє реальну небезпеку для здоров'я людей. Потрапляючи до організму людей і тварин, ці речовини акумулюються та провокують онкологічні захворювання, захворювання кровотворної, імунної та кровоносної систем [Шевердяев О.Н. и др., 1992; Купман Н.Б., 1974]. Гранично-допустима концентрація (ГДК) багатьох ПАР у водних об'єктах господарчо-питного і культурно-побутового водоспоживання полягає у межі 0,05-0,50 мг/дм<sup>3</sup> [Санитарные правила и нормы, 1988].

Джерелами надходження ПАР у води відкритих водойм є підприємства текстильної промисловості, штучного волокна, чорної, кольорової металургії. Велика кількість ПАР присутня у стічних водах важкої, легкої, нафтодобувної і нафтопереробної промисловостей, машинобудівних і горнозбагачувальних підприємств, коксохімічного виробництва [Шевердяев О.Н., Белов П.С., Шкитов А.М., 1992]. Близько 60% (8 млн. тон на рік) ПАР, які випускають у всьому світі, витрачається на виробництво мючих засобів для побутових і промислових потреб. 40% ПАР використовується у виробництві штучного волокна і синтетичного каучуку, при флотації руд, для деемульгування нафти, у промивних рідинах для буріння свердловин, а також у металоброблювальній, будівельній, парфумерно-косметичній промисловостях [Шинода К. и др., 1966; Шевердяев О.Н. и др., 1992]. Склад СВ підприємств, що використовують ПАР, різноманітний і залежить від технологічного процесу виробництва і виду виготовляємої сировини.

Екологічна шкідливість ПАР характеризується насамперед їх біологічним розкладанням. Встановлено [Скрылев Л.Д., Сазонова В.Ф., 1992], що найбільшу швидкість біорозкладання мають ПАР з лінійним вуглеводневим радикалом, тоді як ПАР з ароматичним або розгалуженим вуглеводневим радикалом, особливо з четвертинним атомом вуглецю (наприклад, солі алкілпіридинію), погано розкладаються мікроорганізмами. З перелічених вище причин, вміст ПАР старанно регламентується не тільки у воді господарсько-питного і культурно-побутового водопостачання, але й і у водоймах, що використовуються для рибогосподарських

заходів [Маркова О.С., 2004; ДСТУ 3812-98, 1999].

Щодо негативного впливу ПАР на навколишнє середовище, спричиненого їх функціональними властивостями, слід зауважити, що зменшення поверхневого натягу у випадку потрапляння ПАР у водойми приводить до зниження вмісту вуглекислого газу та кисню у воді. ПАР разом із жирами, нафтопродуктами та маслами утворюють на поверхні води плівку, яка перешкоджає газообміну між водою та атмосферою, що додатково знижує ступінь насиченості води киснем. ПАР також адсорбуються на поверхні частинок піску, глини чи ґрунту, завдяки чому їх біорозклад значно сповільнюється. Побічною дією такої адсорбції є одночасна десорбція іонів важких металів, адсорбованих цими частинками, у водне середовище [Шандрович В.Т., 2015].

### **1.2.1. Екологічна небезпека використання оксигетильованих алкілфенолів**

Екологічні проблеми, пов'язані з використанням ПАР, численні, проте з частиною з них до цих пір вдавалося боротися, замінюючи повільно підлягаємі біорозкладанню і токсичні компоненти синтетичних миючих засобів менш небезпечними аналогами. Невирішеними залишаються проблеми, пов'язані з використанням цілого класу неіоногенних ПАР – етоксилатів алкілфенолів [Тихова А.А., 2015]. Перша полягає в їх стійкості до біодеградації, а також утворенням в ході неї стійких інтермедіатів, таких як нонілфенол, моно- і діетоксилати нонілфенолу. Незважаючи на обробку стічних вод на очисних спорудах, значна їх частина все одно потрапляє в природні водойми [Bergé A. et al., 2012; Lara-Martín P.A. et al., 2006]. На початку минулого десятиліття на території Європи вміст NPEO і NP2EO в поверхневих водах коливався в межах від 2,45 до 100 і вище мг/л, причому максимум був зареєстрований в Іспанії [Тихова А.А., 2015]. Однак зі вступом чинності 18 червня 2003 р. Директиви 2003/53 /ЄС, що обмежує в межах Євросоюзу використання оксигетильованих алкілфенолів у всіх областях на рівні <0,1%, концентрація NP1-2EO скоротилася до 0,66 мг/л. В Азії забрудненість водойм етоксилатами алкілфенолів продовжує збільшуватися внаслідок зростання

індустриалізації і відсутності законодавчих стримуючих факторів. Згідно з результатами недавніх досліджень, максимальний вміст нонілфенолу в річкових водах Китаю, Республіки Корея і Сінгапуру знаходиться на рівнях 28,6 мг/л, 15,8 мг/л і 3,91 мг/л відповідно [Bergé A. et al., 2012].

Завдяки високій ліпофільності, метаболіти оксиетильованих алкілфенолів схильні до адсорбції на донних відкладеннях, біоаккумуляції. Найбільш яскраво цю тенденцію демонструє NP, вміст якого в природних об'єктах збільшується в ряду: поверхневі води → зважені тверді частинки морські; донні відкладення прісноводні → донні відкладення. Результати всебічного дослідження, проведеного Berge з співавторами [Bergé A. et al., 2012], показують, що в результаті промислових і автомобільних викидів, а також спалювання твердих побутових відходів, їх сліди присутні навіть в атмосфері і дощових водах.

Інша негативна особливість етоксилатів алкілфенолів пов'язана з сильною токсичністю напівпродуктів їх біодеградації. Було виявлено, що алкілфеноли, зокрема ноніл- і октілфеноли, є кінцевими продуктами анаеробного біорозкладання, виявляють властивості, що імітують дію одного з найважливіших гормонів – естрогену. Пізніше схожі властивості були виявлені у безлічі інших органічних сполуках, здатних впливати на синтез, метаболізм і зв'язування природного гормону і протидіяти йому, руйнуючи репродуктивну систему живих організмів. У літературі такі речовини отримали назву ксеноестрогенів [Chena M. et al., 2013; Park Y.-J. et al., 2011]. Дія алкілфенолів як ксеноестрогенів полягає в імітації впливу естрогену на зворотний зв'язок між мозком і залозами, виробляють статеві гормони, що робить сильний фемінізуючий вплив на організм [Тихова А.А., 2015]. Однак незважаючи на перераховані недоліки, оксиетильовані алкілфеноли продовжують займати друге місце по застосуванню серед усіх неіоногенних ПАР після оксиетильованих спиртів. Цим фактом етоксилати алкілфенолів зобов'язані поєднанню ряду корисних властивостей з низькою вартістю виробництва, що робить повну відмову від них неможливим.

### 1.2.2. Токсичність нонілфенолу

Однією з найбільш серйозних сучасних екологічних проблем є забруднення навколишнього середовища гормоноподібними ксенобіотиками, до яких відносяться персистентні хімічні сполуки – алкілфеноли, зокрема, нонілфенол (НФ). Відтворюючи або модифікуючи дію ендогенних гормонів, вони впливають на механізми регуляції репродуктивної функції живих організмів, тому їх називають також ендокринними деструкторами. НФ є продуктом неповної трансформації неіоногенних поверхнево-активних речовин (ПАР) нонілфенолетоксилатів (НФЕО). Етоксильовані неіоногенні ПАР широко використовуються в різних галузях промисловості та побуті як основа більшості миючих засобів, тому НФ реєструється в ґрунті, воді, донних відкладеннях. На сьогоднішній день використання НФ обмежено в країнах Європейського Союзу.

Дослідження впливу гормоноподібних ксенобіотиків, зокрема нонілфенолу (рис. 2) на ґрунтову та морську мікробіоту практично відсутні [Руссу А.Д., 2017].

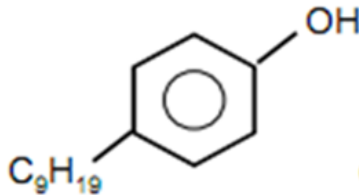


Рис. 2. Нонілфенол

Нонілфенол в якості сировини використовується при виробництві неіоногенних ПАР-етоксильованих нонілфенолів, стабілізаторів етилцелюлози, епоксидних смол, складних ефірів, миючих засобів, антиоксидантів та ін. Крім того, НФ міститься в косметичних засобах, є компонентом фармацевтичних препаратів, фарбувальних засобів, інсектицидів, бактерицидів.

Найчастіше у навколишнє середовище надходять нонілфенолетоксилати, які в подальшому розкладаються з утворен-

ням нонілфенолу. Нонілфенол, як напівлетка сполука, надходить в атмосферу зі станцій очищення стічних вод, та з забруднених поверхневих вод [Cincinelli A. et al., 2003]. Після потрапляння в атмосферу НФ повертається у водні та ґрунтові екосистеми зі снігом або дощем.

При попаданні НФ в водойми відбувається його перенесення в придонні горизонти і, в силу високої ліпофільності ( $\log K_{ow} = 4,3$ ), спостерігається накопичення поллютанту в донних відкладеннях, де його концентрація може сягати 13–32,43 мг/кг донних осадів [Milinovic J., 2014; Руссу А.Д., 2017]. Нонілфенол є персистентною сполукою, період його напіврозпаду в донних відкладеннях становить понад 60 років [Shang D.Y. et al, 1999].

Більшість сучасних досліджень присвячено вивченню поширення нонілфенолу у водному середовищі, оскільки внаслідок промислових та побутових скидів стічних вод 60–65% вироблених алкілфенолетоксилатів (АФЕО) потрапляє в воду.

В даний час встановлено, що нонілфенол надає токсичну, естрогенну і канцерогенну дію на живі організми, викликаючи у них біохімічні та генетичні зміни. Найбільш небезпечна дія нонілфенолу пов'язана з тим, що НФ є руйнівником ендокринної системи і, завдяки своїй схожості з естрогеном, порушує нормальний баланс гормонів в живих організмах [Руссу А.Д., 2017; IARC Monographs, 2010].

Алкілфеноли імітують функції естрогенів, зв'язуючись з природними рецепторами і змінюючи синтез і розпад природних гормонів організму [Schantz S.L., Widholm J.J., 2001]. В силу структурної подібності з гормоном естрадіолом, алкілфеноли викликають серйозні ендокринні порушення у живих організмів, сприяючи фемінізації чоловічої фракції популяції [Adeoya-Osiguwa S.A. et al, 2003].

Незважаючи на те, що алкілфеноли володіють значно меншою естрогенною активністю в порівнянні з 17- $\beta$ -естрадіолом, їх хімічна стабільність і здатність до накопичення в тканинах організму (при хронічному впливі) призводить до серйозних наслідків в популяціях гідробіонтів [Jobling S. et al, 1998].

Алкілфеноли здатні стимулювати продукцію білка-попередника яєчного жовтка вітелlogenіна в печінці чоловічих і нез-

рілих жіночих особин риб, який зазвичай присутній у високій концентрації тільки у дорослих особин жіночої статі. Крім того, НФ порушує цикл сперматогенезу і сприяє розвитку стану гермафродитизму у чоловічих особин риб [Bevan C. L, et al., 2003; Руссу А.Д., 2017].

Викликаючи різні порушення в розвитку організмів, нонілфенол може істотно впливати на збільшення смертності потомства і зниження народжуваності.

Дія нонілфенолу може привести до розвитку морфологічних деформацій в організмі, зменшення маси тіла, стресових станів, гальмування статевого розвитку та репродуктивної функції, порушення метаболізму ендогенних стероїдів [Руссу А.Д., 2017]. Нонілфенол викликає геномну нестабільність і гістопатологічні зміни в організмі [Uguz C. et al., 2009].

В даний час встановлено, що нонілфенол при вдиханні здатен викликати набряк легенів, при попаданні на шкіру – опіки, при ковтанні – біль в животі і горлі, розлад шлунка та ін. НФ може накопичуватися в жирових тканинах і підлягати метаболізму в печінці, і, як наслідок, проникати в гормонально сприйнятливі тканини організму [Бураковский А.И. и др., 2010].

Нонілфенол є токсичним для багатьох видів прісноводної і морської біоти [Gao Q.T., Tam N.F.Y, 2011].

В даний час отримані дані про хронічну токсичність НФ, як мінімум, для 53 видів прісноводних і морських риб і безхребетних [Vazquez-Duhalt R., et al., 2005]. LC<sub>50</sub> нонілфенолу для риб становить від 130 до 1400 мкг/л, для безхребетних 20–1590 мкг/л [Naylor C.G., 1995]. Токсичність НФ (EC50) для водоростей, в тому числі, ціанобактерій, становить 27–2960 мкг/л [Medvedeva N., 2017; Zaytseva T.B. et al., 2015].

В умовах стресу, викликаного НФ, у ціанобактерій *Microcystis aeruginosa* і *Planktothrix agardhii* може відбуватися стимуляція синтезу альготоксинів і одорируючих сполук – геосміну і 2-метилізорборнеолу і збільшення концентрацій цих метаболітів в середовищі [Medvedeva N., 2017; Zaytseva T.B. et al., 2015].

### 1.3. Джерела забруднення навколишнього середовища фенольними сполуками, їх токсичність

Фенол і його похідні забруднюють стічні води хіміко-фармацевтичних виробництв, медичних установ, і відносяться до високонебезпечних речовин (II клас небезпеки по ДСТ 12.1.007-76). У медичній практиці в якості лікарських субстанцій використовуються такі сполуки як: фенол, тимол, резорцин. Одноатомні та багатоатомні феноли, нафтоли і їх похідні (саліцилова кислота, п-амінофенол, м-аміофенол і ін.) широко представлені в технології синтезу фармацевтичних препаратів [Бькова Г.С. и др., 2014].

Висока токсичність фенолу і його похідних обумовлена наявністю в їх структурі активної функціональної групи -ОН, пов'язаної з ароматичним кільцем, а також інших груп (карбоксильної, нітро-, аміно-, галоген-вмісних), що дозволяє їм взаємодіяти з ферментами, білками і іншими речовинами живих організмів, деформуючи їх будову і біологічні функції [Елин Е.С., 2001].

Феноли і його численні похідні використовуються в якості продуктів або вихідних речовин у виробництві дезінфектантів [Шкромада О.І., 2014], ліків, пестицидів, полімерів, лаків, будівельних матеріалів, синтетичних поверхнево-активних речовин [Юсубова Ю.М. и др., 2014], стабілізаторів, товарів хімічної промисловості тощо [Войцехівська О.В. и др., 2015], в СВ підприємств нафтохімічного профілю [Баландина А.Г. и др., 2015], бурових розчинах нафтодобувних свердловин [Карабин В.В. и др., 2006].

На підприємствах нафтохімічного профілю нафта і фенол є вихідними або проміжними продуктами в різних технологічних процесах. Важкоокиснювальні органічні забруднення здатні накопичуватися у навколишньому середовищі і протягом тривалого часу надавати токсичну дію на живі організми. Найбільш небезпечні хлорфеноли - попередники діоксинів [Баландина А.Г. и др., 2015].

У поверхневих водах феноли зустрічаються в розчиненому стані у вигляді фенолятів, фенолят-іонів і вільних фенолів, які в свою чергу можуть вступати в реакції конденсації і полімеризації, утворюючи складні гумусоподібні та інші стійкі сполуки різного

ступеня токсичності [Коростелева А. В., 2011].

Скидання фенольних вод у водойми різко погіршує їх загальний санітарний стан, впливаючи на живі організми не тільки своєю токсичністю, а й значною зміною режиму біогенних елементів і розчинених газів (при окисленні фенолів поглинається кисень). Токсичність просторово-розгалужених похідних фенолу представлена в роботі [Руденко Л.М., Волкова А.А., 2009].

Показано, що величини ЛК<sub>50</sub> фенолу для різних представників ракоподібних (*Branchiopoda*, *Ostracoda*, *Phyllopora*, *Copepoda*, *Malacostraca*) варіює від 1 до 200 мг/л [Черкашин С.А., Блинова Н.К., 2013]. Найбільш уразливими серед естуарних і морських ракоподібних є деякі види сімейства *Mysidae* і личинки креветки *Penaeus chinensis* (*Penaeidae*).

Попадання навіть незначної кількості фенольних сполук ФС у водойми призводить до зменшення здатності водного об'єкта до саморегенерації. Мінімальні токсичні дози зменшують на 50% кількість мікроорганізмів, які забезпечують знешкодження токсичних сполук у воді; для фенолу, гідрохінону і катехіну вони становлять, відповідно 22,1; 0,08; 31,8 мг/л [СанПиН 2.1.4.1074-01.; ГН 2.1.5.689-98].

Фенол і його похідні мають високу токсичність для людини (ГДК фенолу у воді об'єктів господарсько-питного та культурно-побутового користування - 0,001 мг/л) [СанПиН 2.1.4.1074-01].

#### **1.4. Нафтове забруднення, його вплив на навколишнє середовище**

Нафтові забруднення відносяться до числа найбільш масових і небезпечних за своїми наслідками проявів антропогенного впливу на природні екосистеми.

Нафтовидобувна та нафтопереробна промисловості є основними джерелами забруднення навколишнього середовища вуглеводнями нафти [Казанкапова М.К., 2013].

Екологічні проблеми починаються вже на стадії видобутку нафтової сировини і її поставки на підприємства. За експертними оцінками на нафтопромислах втрачається до 3,5% від усього об'єму добутої нафти. Її розливи викликають загибель організмів,

зміну властивостей екосистем і їх деградацію.

Проблема нафтового забруднення набула глобальних масштабів в кінці ХХ століття. Це пов'язано з тим, що нафта стала найбільш використовуваним джерелом енергії. Втрати при сучасних обсягах видобутку нафти обчислюються десятками мільйонів тон на рік. Процес самовідновлення біоценозів в регіонах, які зазнали нафтового забруднення, займає досить тривалий час і протікає протягом 10–25 років [Тимергазіна І.Ф., Переходова Л.С., 2012].

Не менш гострі проблеми виникають при транспортуванні нафти на нафтопереробних підприємствах. Нафта транспортується по трубопроводах, які схильні до корозії, відкладанню смол і парафінів усередині труб. Щорічно відбувається більш 60 великих аварій і близько 20 тис. випадків, що супроводжуються значними розливами нафти, потраплянням її у водойми, загибеллю людей, матеріальними втратами [Абрасимов А.А., 2002].

Розлиття нафти внаслідок розвідувальних робіт, добування, транспортування, переробки чорного золота, а також аварій, які відбуваються на морських нафтопромислах – викликають знищення рослинності, руйнування міст, існування тварин і відповідно зменшення їх чисельності, забруднення питної води, що приводить до зростання захворювань у людей [Гольдберг В. М., 2001].

Істотними джерелами забруднення нафтопродуктами навколишнього середовища є також великі порти і перевальний комплекси, а також недостатньо очищені виробничі, господарсько-побутові та зливові води приморських міст [Долинский С.К. и др., 1999].

В значній мірі до нафтового забруднення схильна і українська частина шельфу Чорного моря і, в першу чергу, його північно-західний район, що знаходиться під сильним впливом стоків Дунаю, Дністра, Дніпра та Південного Бугу [Монина Т.Л. и др., 1995; Доценко С.А., и др., 1995].

Різноплановий і масштабний антропогенний вплив на екосистеми північно-західної частини Чорного моря (інтенсивне судноплавство, урбанізація та індустріалізація прибережних територій, створення нових великих перевалочних комплексів, освоєння запасів нафти і газу на шельфі, рефулювання піску і т.д.), на тлі евтрофікації і періодичної гіпоксії, призвели до зниження самоо-

чищувальної здатності морських екосистем і їх трансформації в небажаному напрямку [Миронов О.Г., 1985].

Подальша інтенсифікація антропогенних навантажень на екосистеми північно-західної частини Чорного моря, в тому числі пов'язаних із забрудненням нафтою і нафтопродуктами (будівництво нафтового терміналу в Південному, видобуток нафти на шельфі, збільшення інтенсивності судноплавства), без вдосконалення комплексу природоохоронних заходів призведуть до подальшої деградації морських біоценозів і зниження рекреаційного потенціалу Чорноморського басейну.

Таким чином, однією із глобальних проблем сьогодення є забруднення води і ґрунтового покриву нафтою і продуктами її переробки, тому розробка нових і вдосконалення існуючих технологій відновлення забруднених вуглеводнями нафти води і земель відноситься до пріоритетних.

#### **1.4.1. Токсичність нафти та продуктів її переробки**

Токсичність нафти визначається її вуглеводневим складом. Як правило, більш важкі компоненти є більш токсичними, ніж легкі, а токсичність суміші вуглеводнів вище токсичності її окремих компонентів. Більшість канцерогенних вуглеводнів здатна до накопичення. Потрапляючи в ґрунт, токсичні компоненти нафти можуть перетворюватися на ще більш токсичні сполуки, адсорбуватися, концентруватися і втягуватися в трофічні ланцюги, по яким можливе надходження токсикантів в організм людини [Смольникова В.В. и др., 2009; Гончарук Е.И., 1986].

Легкі вуглеводні нафти володіють місцевою подразнюючою дією, мають виражений нейротропний характер. Рідкі вуглеводні з числом вуглецевих атомів від 5 до 16 володіють наркотичною і подразнюючою дією, можуть викликати тривале збудження центральної нервової системи.

При попаданні на шкіру, нафта викликає дерматити та екземи. Усі вуглеводні впливають на серцево-судинну систему і на показники крові (зниження вмісту гемоглобіну та еритроцитів), а також можливе ураження печінки, порушення діяльності ендокринних залоз. Визнано канцерогенну дію ряду вуглеводнів

[Маркизова Н.Ф., 2004; Влияние загрязнения окружающей среды на здоровье человека, 2002].

Контакт з нафтою викликає сухість шкіри, пігментацію або стійку еритему, призводить до утворення вугрів, бородавок на відкритих частинах тіла. Гострі отруєння парами нафти викликають підвищення збудження центральної нервової системи, зниження кров'яного тиску і нюху.

Нафта містить легколеткі речовини, що викликають підвищене захворювання органів дихання, функціональні зміни з боку центральної нервової системи [www.OpenGost.ru Методические указания МУК 4.1.1956-05].

Легкі фракції нафти та легкі нафтопродукти (бензин, газ) з щільністю нижче  $0,83 \text{ г/см}^3$  володіють найбільш сильною токсичною дією на живі організми. Але вплив цих продуктів відбувається нетривалий час внаслідок швидкого випаровування, біодеградації і розсіювання.

Важкі фракції нафти і важкі нафтопродукти (моторне масло і гудрон) з щільністю вище  $0,86 \text{ г/см}^3$  хоча і не надають фітотоксичної дії на тест-рослини навіть при дуже високих концентраціях, однак значно погіршують властивості ґрунтів, ускладнюють газо- і водообмін у ґрунтах, ускладнюють дихання і живлення рослин. Ці компоненти дуже стійкі й можуть зберігатися в ґрунтах протягом тривалого часу (роки, десятки років) [Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв, 1984].

Про токсичність нафтових вуглеводнів відомостей майже не існує. Циклічні вуглеводні з насиченими зв'язками окиснюються дуже важко. Біодеградацію циклоalkanів утрудняє їхня мала розчинність і відсутність функціональних груп.

Ароматичні вуглеводні – найбільш токсичні компоненти нафти. У концентрації всього 1% у воді вони вбивають усі водні рослини; нафта, що містить 38% ароматичних вуглеводнів, значно гнобить ріст вищих рослин. З збільшенням ароматичності нафти збільшується її гербіцидна активність.

Вміст ароматичних вуглеводнів у нафті змінюється від 5 до 55%, найчастіше від 20 до 40%. Основну масу ароматичних структур становлять моноядерні вуглеводні – гомологи бензолу. Поліциклічні ароматичні вуглеводні, тобто вуглеводні, що скла-

даються з двох і більш ароматичних кілець, містяться в нафті в кількості від 1 до 4% [*Восстановление нефтезагрязнённых почвенных экосистем, 1988*].

Бензол і його гомологи виявляють більш швидку токсичну дію на організм, ніж поліциклічні ароматичні вуглеводні. Останні діють повільніше, але більш тривалий час, будучи хронічними токсикантами. Ароматичні вуглеводні важко піддаються руйнуванню. Звичайно вони окиснюються мікроорганізмами [*Шилина А.И., 1985*].

Смоли й асфальтени відносяться до високомолекулярних неуглеводних компонентів нафти. У складі нафти вони відіграють винятково важливу роль, визначаючи багато в чому її фізичні властивості й хімічну активність. Структурний каркас смол і асфальтенів становлять висококонденсовані поліциклічні ароматичні структури, складених із десятків кілець, з'єднаних між собою гетероатомними структурами, що містять сірку, кисень, азот.

Смоли – грузлі мазеподібні речовини, асфальтени – тверді речовини, нерозчинні в низькомолекулярних вуглеводнях. Відносна молекулярна маса смол – 500–1200, асфальтенів – 1200–3000 [*Панов Г. Е., 1986*].

За вмістом смол і асфальтенів нафти розділяються на малосмолисті ( від 1–2 до 10% смол і асфальтенів), смолисті (10–20%), високосмолисті (23–40%). Частка асфальтенів у смолисто-асфальтенових речовинах становить: у малосмолистій нафти – 7–10, у смолистій – 15–26, високосмолистій – 17–40%.

Смоли й асфальтени містять основну частину мікроелементів нафти, у тому числі майже всі метали. Загальний вміст мікроелементів у нафті – соті, десяті частки відсотка. Смолисті речовини дуже чутливі до елементарного кисню й активно приєднують його.

На повітрі смолиста нафта швидко густіє, втрачає рухливість. Якщо нафта просочується зверху, її смолисто-асфальтенові компоненти сорбуються в основному у верхньому, гумусовому шарі, іноді міцно цементуючи його. При цьому зменшується поровий простір ґрунту.

Смолисто-асфальтенові компоненти гідрофобні. Обгортаючи коріння рослин, вони різко погіршують доступ до них вологи,

у результаті чого рослини засихають. Ці речовини малодоступні мікроорганізмам, процес їх метаболізму йде повільно, іноді десятки років. Токсичний вплив виявляють деякі важкі метали, які входять до складу смол і асфальтенів. Останні малодоступні мікроорганізмам і звичайно залишаються в ґрунті у вигляді міцного органо-мінерального комплексу [*Восстановление нефтезагрязнённых почвенных экосистем, 1988*].

Антропогенний нафтовий пресинг викликає порушення рівноважного стану екосистеми в цілому. Це супроводжується відхиленням в розвитку різних представників флори, фауни, людини.

Негативний вплив нафтового забруднення характеризується: порушенням природного ландшафту місцевості та втратою сільськогосподарських земель; порушенням у ґрунті найважливіших генетичних показників: зміна природного морфологічного профілю, хімічних і біологічних властивостей, формування щільних бітумних кірок, непроникних для коріння рослин і мікроорганізмів; забрудненням повітряного басейну внаслідок випарування вуглеводів навколо нафтопромислів; забрудненням промислових зон нафтопромислів сірководнем, меркаптанами, аміаком, сірчистим ангідридом і іншими токсичними речовинами, що викликають у живих організмів захворювання; підвищенням рівня підземних вод і, як наслідок, утворення дрібних засолених озер; зміною щільності, зменшенням прозорості води, загибелі риб, водоплавних птахів і дрібних тварин.

Відбувається зміна хімічного, мікробіологічного складу підземних та поверхневих вод і ґрунтів. Це пов'язано з їх забрудненням нафтопродуктами, поверхнево-активними речовинами, різними хімічними реагентами, що є небезпекою для існування людини та живої природи.

У процесі трансформації вуглеводів нафти можуть утворюватися стійкі до мікробіологічного розщеплення ще більш токсичні сполуки, які мають канцерогенні та мутагенні властивості [*Другов Ю.С., Родин А.А., 2010*].

Дослідження на рослинах і тваринах показали, що сильні токсичні ефекти пов'язані зі сполуками з низькими температурами кипіння, особливо ароматичними речовинами.

Таким чином, очищення навколишнього від нафти та продуктів її переробки є не тільки важливим природоохоронним заходом, але й сприятиме поліпшенню середовища існування людини, і як наслідок - зниження ризику виникнення і розвитку різних захворювань.

З численних методів, які дозволяють зменшити концентрацію нафти в екосистемах, найбільш перспективними вважаються біологічні методи, засновані на природних процесах розкладання нафти в природі, участь в яких беруть вуглеводеньокиснювальними мікроорганізми: бактерії, мікроскопічні гриби і дріжджі.

## РОЗДІЛ 2

### СТІЧНІ ВОДИ, МЕТОДИ ТА КОНСТРУКЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО ОЧИЩЕННЯ

#### 2.1. Хімічний склад і мікробіота стічних вод

Стічні води – всі води та атмосферні опади, що відводяться у водойми з території промислових підприємств і населених місць через систему каналізації або самовідводом, якість яких погіршена внаслідок життєдіяльності людини.

При характеристиці будь-яких СВ велике значення має їх якісний склад. Забруднення СВ за розміром поділяють на: *нерозчинні*, що утворюють великі суспензії (у яких розміри часток перевищують 0,1 мм); *суспензії, емульсії і піни* (у яких розміри часток складають від 0,1 мм до 0,1 мкм); *колоїдні* (з розміром часток від 0,1 мкм до 1 нм); *розчинні* (у вигляді молекулярно-дисперсних частинок розміром менше 1 нм).

СВ забруднені домішками різної природи: *мінеральними; органічними; біологічними.*

Мінеральні забруднення: пісок, частки шлаків, глинисті частки, розчини мінеральних солей, кислот, лугів та багато інших речовин.

Органічні забруднення бувають рослинного і тваринного походження.

До рослинних відносяться залишки рослин, плодів, овочів, папір, рослинні масла та інші. Забрудненнями тваринного походження є фізіологічні виділення людей і тварин, залишки тканин, клейові речовини тощо, які характеризуються значним вмістом азоту.

Біологічне забруднення: бактерії, мікроскопічні гриби і водорості. За своїм хімічним складом вони є органічними забрудненнями, але їх виділяють в окрему групу з огляду санітарної небезпеки, що створюється ними при попаданні у водойми. Головним джерелом мікробного забруднення СВ є фекальні маси.

Мікробіота СВ складається з апатогенних (які не викликають захворювань людини і тварин) і патогенних мікроорганізмів (які викликають різноманітні захворювання, в тому числі і спри-

чиняють епідемії).

Апатогенні мікроорганізми складають основну масу. Серед них є аеробні, але багато анаеробних мікроорганізмів. У колекторах багато аеробних уробактерій (розщеплюють сечовину до карбонату амонію). Вони здатні рости у дуже лужних умовах (рН 9,5).

Анаеробні апатогени, особливо мікроби гниття, виділяють велику кількість газів: сірководень, вуглекислоту, водень, метан. Наслідком є те, що повітря над стічною рідиною містить 8–12% кисню, 1–2% вуглекислоти, 11–12% горючих газів (метан, водень тощо), значний вміст аміаку (до 0,07 мг/100 л), сліди сірководню.

Патогенна мікробіота представлена вірусами, бактеріями-збудниками хвороб, гельмінтами. Біологічне забруднення СВ, особливо господарсько-побутової категорії, може спричинити епідемії, сприяти появі гельмінтозів та інших паразитарних захворювань.

Загальне мікробне число води – кількість мезофільних, мезотрофних аеробів і факультативних анаеробів, що виростають на МПА при 37 °С протягом 24 год.

Індекс БГКП (індекс бактерій групи кишкової палички) – кількість бактерій групи кишкових паличок в 1 дм<sup>3</sup> води (ентеробактерії: кишкова паличка, клебсієли, цитробактер).

Визначення мікробного забруднення води відкритих водойм регламентується методичними вказівками «Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води», затвердженими наказом Міністерства охорони здоров'я України від 03.02.2005 р. № 60.

Показниками біологічної чистоти води є вміст у ній кишкової палички (*Escherichia coli*) та близьких до неї бактерій. Рівень забруднення оцінюють за колі-титром і колі-індексом.

Колі-титр – це найменша кількість води, у якій можна виявити хоча б одну особину кишкової палички.

Колі-індекс – це кількість клітин кишкової палички, яку можна виявити у 1 літрі (1 дм<sup>3</sup>) води.

Вода вважається придатною для пиття, коли її колі-титр знаходиться у межах 300–500, а колі-індекс не перевищує 2–3. Для досягнення цих параметрів використовують різноманітні методи дезінфекції та фільтрування.

## 2.1.2. Промислові та господарчо-побутові води, їх очищення

В залежності від походження СВ поділяють на три категорії: атмосферні, промислові (виробничі) та господарчо-побутові.

Атмосферні води – дощові води та води від танення снігу. Вони також утворюються в результаті забруднення прилеглих територій промислових підприємств; містять сміття, глинисті частинки, кварцовий пісок, високу концентрацію нафтопродуктів, бензин зокрема. Їх відмінною особливістю є епізодичність, мінливість по характеру і концентрації забруднення.

Виробничі стічні води утворюються в результаті технологічних процесів. Концентрація хімічних забруднюючих речовин у виробничих стічних водах (виробничі стічні води містять мало біологічних забруднювачів), що утворюються в процесі різних технологічних процесів, визначається: видом виробництва і вихідної сировини (наприклад, металообробні виробничі стічні води забруднені переважно мінеральними речовинами, в фармацевтична промисловість дає забруднення органічними домішками); режимами окремих стадій процесу виробництва/обробки. СВ більшості підприємств має забруднення як мінеральними, так і органічними речовинами в різних співвідношеннях, що може сильно коливатися в часі і залежить від ходу технологічного процесу.

Після використання у виробничих цілях вода забруднюється або нагрівається, змінює свої первинні властивості, що робить її непридатною для подальшого використання, тобто вона перетворюється у виробничі стічні води (промислові стоки) [Айрапетян Т. С., 2008]. Виробничі СВ діляться на 2 категорії: забруднені і незабруднені (умовно чисті). Незабруднені води надходять від холодильних, компресорних, теплообмінних апаратів, що утворюються при охолодженні виробничого устаткування, готової продукції. Ці води тільки нагріваються і після охолодження використовуються повторно.

До промислових СВ відносяться: умовно чисті (від охолодження агрегатів); хімічно забруднені стічні води; зливові стоки, що збираються з території промислових підприємств (ПП).

У свою чергу, хімічно забруднені СВ підрозділяють на: забруднені мінеральними домішками (підприємства металургійної,

машинобудівної, рудо- та вуглевидобувної промисловості, заводи з виробництва мінеральних добрив, кислот, будівельних матеріалів); забруднені органічними речовинами (підприємства м'ясної, харчової, целюлозно-паперової, хімічної промисловості, заводи з виробництва пластмас, каучуку); та змішані за складом, тобто ті, що забруднені і мінеральними, і органічними домішками (це в першу чергу, заводи з виробництва консервів, цукру; підприємства нафтовидобувної, нафтопереробної, нафтохімічної, текстильної, легкої, фармацевтичної промисловості тощо).

За вмістом забруднюючих речовин виробничі СВ (слабоконцентровані та висококонцентровані) розділяються на чотири групи: 1–500, 500–5000, 5000–30000 і більше 30000 мг/л [Айрапетян Т. С., 2008].

Виробничі СВ протягом зміни можуть надходити рівномірно або нерівномірно, що пов'язано з безперервною або періодичною роботою технологічних установок.

На багатьох виробництвах хімічної, легкої, текстильної, фармацевтичної, харчової й інших галузей промисловості відбуваються залпові надходження висококонцентрованих і високотоксичних стоків. При цьому періодичність скидання може бути один раз у зміну, у добу чи тиждень. Режим спуску виробничих стоків визначається регламентом технологічного процесу виробництва окремих цехів і промислового підприємства в цілому.

Небезпечним і майже повсюдним джерелом забруднення водойм є неочищені або недостатньо очищені стічні води житлово-комунального господарства, тобто господарсько-побутові стічні води. Вони утворюються в населених пунктах в процесі використання питної води для фізіологічних потреб, побутової та господарської діяльності людини.

Обсяг господарчо-побутових стічних вод майже дорівнює обсягу питної води, що споживається в населеному пункті [Медичний портал MedicLab]

Господарчо-побутові стічні води від житлових будинків, різних комбінатів, лікувальних установ тощо надходять у єдину водовідвідну мережу (рис. 3).

У складі таких вод розрізняють фекальні СВ та господарсько-побутові, забруднені різними господарськими відходами,



**Рис. 3. Господарчо-побутові стічні води**  
[<https://delfin.one/stochnye-vody/>]

миючими засобами, різними мікроорганізмами (зокрема, і патогенними), які є продуктами життєдіяльності людини.

Забороняється також скидати в системи каналізації населених пунктів кислоти, горючі суміші, токсичні й розчинні газоподібні речовини (зокрема, розчинники: бензин, диетиловий ефір, дихлорметан, бензол і ін.), здатні утворювати в каналізаційних мережах і спорудах токсичні гази (сірководень, окис карбону, ціанистоводородна кислота, пари легколетучих ароматичних вуглеводнів та ін.), інші вибухонебезпечні й токсичні суміші.

Нерівномірність за складом атмосферних вод, господарчо-побутових і особливо промислових СВ та інтенсивність їх надходження погіршує роботу очисних споруд і ускладнює експлуатацію. Як було зазначено вище, СВ забруднені домішками різної природи: *мінеральними* (пісок, частки шлаків, глинисті частки, розчини мінеральних солей, кислот, лугів), *органічними*, *біологічними* (різні мікроорганізми, дріжджові і цвілеві грибки, дрібні водорості). Біологічне забруднення СВ може спричиняти епідемії, сприяти появі гельмінтозів та інших паразитарних захворювань [Понятовський В. А., 2012; Гончарук В. та ін., 2007].

При аналізі СВ повинні визначатися: вміст компонентів, специфічних для даного виду виробництва (фенолів, нафтопродуктів, поверхнево-активних, радіоактивних, вибухонебезпечних речовин), загальна кількість органічних речовин, що визна-

часться величинами БПК і ХПК; активна реакція; інтенсивність забарвлення; ступінь мінералізації. Необхідно встановити такі параметри, як кінетика осідання або спливання механічних домішок, коагулюємність стоку та ін. Ці дані дозволяють вибрати найбільш доцільний і економічно обґрунтований метод очищення СВ, для конкретного потужного підприємства зокрема [Айрапетян Т. С., 2008].

Промислові й господарчо-побутові стоки, що потрапляють у природні об'єкти, характеризуються високим рівнем вмісту забруднюючих речовин, значною кількістю токсикантів. За таких обставин самостійне відновлення водних джерел стає неможливим. І тут виникає нагальна необхідність у розробці й застосуванні сучасних екологічно безпечних, ефективних методів очищення стічних вод, особливо тих, що повертаються у водні об'єкти, і тих, які підлягають вторинному використанню [Біотехнології в екології, 2012].

Очищення стічних вод – це багатоступеневий складний процес, спрямований на відтворення якісної характеристики забрудненої води для можливості її подальшого господарчого використання. Очищення води, перш за все, передбачає зменшення вмісту або видалення з неї забруднюючих компонентів: органічних речовин, колоїдних чи завислих твердих частинок, а також знищення хвороботвірних бактерій та ін. [Біотехнології в екології, 2012].

Для очищення СВ застосовують окремо механічні (відстоювання, фільтрування), фізико-хімічні (флотация, коагуляція, електроліз тощо) та біологічні (аеротенки, метантенки тощо) методи або різні їх комбінації у випадку великих об'ємів СВ, різноматіності та концентрації забруднюючих речовин. Скидання СВ у водойми можливе лише після очищення та доведення їх до вимог: завислих частинок не перевищує 60 мг/л; відсутні плаваючі органічні забруднюючі речовини; вміст нафти не перевищує 5мг/л; кольоровість – понад 20 одиниць (за платинокобальтовою шкалою); водневий показник рН 6–9; біохімічне споживання кисню не перевищує 50 мг/л; якісний склад води по окремим компонентам відповідає гранично-допустимій концентрації (ГДК), що регламентується чинним законодавством України.

Допустимі величини показників якості стічних вод і води водойм наведено в [Айрапетян Т. С., 2008]. Розглянуто питання, пов'язані з обробкою відходів СВ [Долина Л. Ф., 2014].

Описано нові технології та конструкції установок для очищення води у системах сільськогосподарського водопостачання, технологію біологічної очищення СВ малопотужних молокопереробних підприємств, математичну модель прогнозування кисневого режиму в системі підприємство-річка. Проаналізовано досвід впровадження технології хлорування води з амонізацією, розкрито вміст у питній воді хлороформу – токсичної хлорорганічної сполуки. Визначено шляхи забезпечення ефективного керування водними ресурсами України [Сучасні проблеми охорони довкілля, 2004]. Для вирішення екологічних проблем особливе значення набувають маловитратні біотехнології, які характеризуються максимальним використанням природних ресурсів – метаболічного потенціалу різних біологічних об'єктів.

## **2.2. Біологічні методи очищення стічних вод**

Очищення стічних вод (СВ) на промислових підприємствах України залишається однією з найважливіших й актуальних екологічних проблем. Серед усіх сучасних методів знешкодження промислових і побутових СВ найбільш екологічно безпечними визнано біологічні, що базуються на природних процесах самоочищення. Важливу роль в цьому відношенні відіграють гетеротрофні мікроорганізми, здатні використовувати органічні та неорганічні політанти в якості джерела живлення. Контактуючи з цими сполуками, мікроорганізми в процесі отримання енергії частково їх руйнують, перетворюючи на воду, діоксид карбону, аніони (сульфатні іони) та катіони деяких металів, а частково вони споживають ці речовини для власної репродуктивності, тобто для нагромадження біомаси. Крім того, мікроорганізмам притаманна властивість швидкого скупчення та утворення колоній, що дає можливість легко відділяти їх від очищеної води [Біотехнології в екології, 2012].

Біологічні методи очищення стічних вод ґрунтуються на природних процесах життєдіяльності мікроорганізмів, які міне-

ралізують розчинні органічні сполуки, що є для мікроорганізмів джерелами живлення. Споруди біологічного очищення можна розділити на два види:

1. Споруди, в яких процес біологічного очищення протікає в умовах, близьких до природних (поля зрошення, фільтрації, біологічні ставки та лагуни, болота або мочари).

2. Споруди, в яких процес біологічного очищення здійснюється в штучно створених умовах (аеротенки і біофільтри) [Лькова О.В., Гогина Е.С., 2009].

Самоочисна здатність водойм не є безмежною і покликана забезпечувати лише очищення води від забруднень, що потрапляють у неї природним шляхом. Штучне навантаження на водну екосистему пагубно позначається на життєздатності та функціонуванні місцевих організмів.

Найпростішими системами для очищення води стали штучні споруди – поля зрошування (малопотужні споруди, пропускна здатність яких не перевищує 1000 м<sup>3</sup> СВ на добу). Очищення СВ відбувається у дамбах, вода при цьому очищується біологічним (гниття, біоокиснення) та фізичним (випаровування, виморожування, фільтрування) методами.

Поля зрошення вперше з'явилися в 1887 р. в Одесі (функціонують і по теперешній час) та в 1894 р. в Києві.

Однак, наприкінці ХІХ століття проблема забруднення поверхневих вод стала настільки актуальною, що її можна було вважати екологічною катастрофою: підвищена кількість відходів почала перевищувати природну здатність до самоочищення. Санітарна комісія, яка обстежувала на початку ХХ століття річку, що протікала через промисловий район Англії (Брадфорд), звітувала, вмочуючи перо безпосередньо в воду цієї річки. В середині ХІХ ст. в Лондоні з'явився перший колектор для збору стічних во, у 1920 р. Їх кількість сягала 40. Поля зрошування в розвитку промисловості було вдосконалено у більш потужні та крупніші споруди (рис. 4).

Великого поширення набули біологічні ставки та лагуни, в яких очищення відбувається завдяки природним ґрунтовим процесам самоочищення, які стимулюються додатковою механічною аерацією.



**Рис. 4. Зовнішній вигляд полів зрошення**

[<https://acs-nnov.ru/biologicgeskayu-ocgistka-stocgnich-vod.html>]

Біоремедіація та фіторемедіація – комплекс методів очищення вод, ґрунтів і атмосфери з використанням метаболічного потенціалу біологічних об'єктів (рослин, грибів, комах, черв'яків, мікроорганізмів) або їх ферментів (рис. 5).

В кінці ХХ століття в США та розвинених Європейських країнах технології були направлені на створення штучних гідро-біоценозів. Такі складні гідротехнічні споруди отримали назву wetlands – болота або мочари.

Мочари – це горизонтальна інженерна споруда з гравійним завантаженням вкритим біологічною плівкою, яка розміщена невеликою товщиною.

Особливістю мочарів є те, що це складний біоценоз. На ньому ростуть вищі рослини (рогоз, айр, комиш тощо), які сприяють аерації води, очищують її від біогенних елементів (рис. 6).

Крім того, розгалужена коренева система вищих рослин збільшує поверхню біоплівки. Для більшої ефективності підбираються такі рослини, які здатні до накопичення органічних поллютантів, нафтопродуктів зокрема, важких металів, тощо.

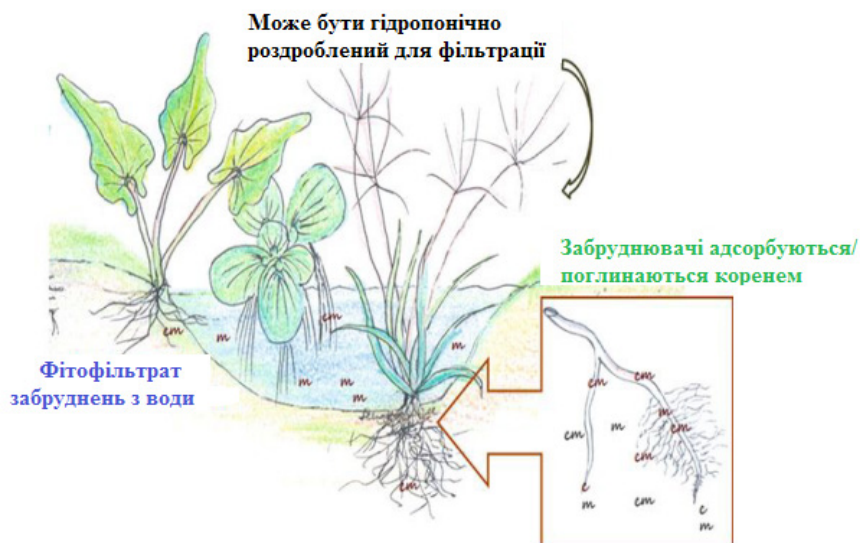
За своєю конструкцією мочари нагадують “лежачий” біофільтр. Стічна вода після ретельного механічного очищення розподіляється по ширині споруди і дуже повільно просочується-

ся впродовж тривалого часу (1–3 доби) крізь обросле біоплівкою завантаження.

Мочари не потребують ніяких енергетичних затрат на аерацію і переміщення води, вони прості в обслуговуванні, екологічно бездоганні і повинні зайняти гідне місце в системах очищення стічних вод.



**Рис. 5. Споруди для біоремедіації промислових стічних вод**  
[<https://ua.thpanorama.com/articles/biologa/biorremediacin-caractersticas-tipos-ventajas-y-desventajas.html>]



**Рис. 6. Споруди для фіторемедіації промислових стічних вод**

Таким чином, складні біохімічні процеси, що відбуваються при рості рослин, можуть бути цілеспрямовано використані для розщеплення, асиміляції або концентрування токсичних сполук-забруднювачів природного середовища.

Підтверджено, що за допомогою *Eichornia crassipes* або *Eichornia speciosa* (ейхорнія) сімейства *Pontederiaceae*, добре очищуються брудні господарчо-побутові стоки і стоки тваринницького походження – зі стічних вод рослина витягує більшість біогенних елементів, таких, як азот, фосфор, калій, кальцій, магній, марганець, сірка, концентрує сульфати і фосфати, а також такі токсичні речовини, як: фенол, нафтопродукти, синтетичні ПАР [Дегтярев В.П., Дегтярев С.В., 1999]. Саме цей набір інгредієнтів є основними забруднювачами річок, морського середовища.

При очищенні стоків, в яких знаходиться аміак, фосфати, луѓи, сульфідн, нафтопродукти, феноли, рослина окиснює і розщеплює їх на прості елементи і засвоює як джерело харчування. Розроблена технологія очищення стоків за допомогою ейхорнії [Дмитриев А.Г. и др., 1999; Дмитриев А.Г., 1999]. Ця технологія відповідає усім критеріям екології та ресурсозбереження – мінімум механізації та споживання електроенергії, відсутність використання будь-яких хімічних речовин або фізичних полів.

Однак, як і будь-яка сучасна технологія, вимагає підготовки персоналу і серйозної інтелектуальної роботи – необхідно проводити «індивідуальні» розрахунки для кожної очищувальної зони: враховувати ступінь і характер забруднення, тривалість світлового дня, температурні режими повітря і води, щільність розсади.

При розробці і апробації даної біотехнології особливу увагу приділяють дотриманню умов екологічної безпеки – ейхорнія володіє надзвичайною біоактивністю (тому вона так довго і існує на Землі), і чи не стане вона ворогом існуючих біоценозів.

У разі неконтрольного поширення ейхорнія здатна повністю змінити існуючу екосистему. Тому дана технологія передбачає заходи по суворому обмеженню поширення цього «біохістильщика». Розсаду ейхорнії висаджують у спеціальні мережі, сплетені з шпагату і обладнані поплавками з пінопласту або пластикових пляшок. Такі «камери» не тільки обмежують її неконтрольоване поширення, але і допомагають у прибиранні рослин, що

надмірно розрослися.

Сучасні біологічні методи очищення великих об'ємів СВ базуються на біотехнологіях – активному використанні живих не-патогенних мікроорганізмів.

Очищення СВ біологічними методами складається з трьох обов'язкових етапів:

- 1) механічне очищення від твердих речовин;
- 2) біологічне очищення;
- 3) фізико-хімічне доочищення, обеззаражування.

Процеси, які відбуваються при біотехнологічному очищенні – це відомі в природі явища, характерні для процесу самоочищення, але як технології вони були запропоновані певними особистостями і мають певну історію застосування.

Всі біотехнологічні методи очищення СВ використовують біоценози, що поміщаються в певні інженерні споруди, які забезпечують їх ефективне функціонування. Ці споруди можна умовно розподілити на два види: з очищенням в умовах, близьких до природних; та з очищенням в штучно створених умовах (рис. 7, 8).

До першого виду належать поля фільтрації і зрошення (земельні ділянки, в яких очищення відбувається за рахунок фільтрації крізь шар ґрунту), а також біологічні ставки (неглибокі водойми, в яких відбувається очищення стоків за рахунок природних процесів самоочищення).

До другого виду відносять такі споруди як: аеротенки і біофільтри. Аеротенк – резервуар, в якому стоки змішуються з активним мулом (біоценоз мікроорганізмів, здатних поглинати органіку зі стоків).

Біофільтр – резервуар з фільтруючим матеріалом, поверхня якого вкрита біологічною плівкою, що утворена різними колоніями мікроорганізмів, здатних сорбувати, наприклад високотоксичні іони важких металів, і окиснювати різні органічні поліутанти (наприклад, фенольні сполуки, синтетичні поверхнево-активні речовини, нафтопродукти, тощо), що присутні в СВ.

В аеротенках та окситенках використовують активний мул. Цікаво зазначити, що активний мул вперше запропонували застосовувати Є. Ардерн і В. Локкет у 1914 р. Саме цю дату (у 1914 р. в Англії створено перший аеротенк, який використовував “актив-



**Рис. 7. Споруди для очищення промислових стічних вод**  
[<https://ziko.com.ua/ochischennya-promislovih-stokiv-article-ochyshchennya-promyslovykh-stokiv/>]



**Рис. 8. Споруди для очищення промислових стічних вод**  
[<https://ziko.com.ua/organization-solution-biologichne-ochyshchennya-stichnykh-vod/>]

ний мул<sup>2)</sup>) можна вважати початком застосування біологічних методів у очищенні стічних вод.

Впроваджувачем гранульованого анаеробного мулу є нідерландець Леттінг (70-ті роки XX ст.), а селективних мікроорганізмів – українка Наталя Путиліна.

На сьогоднішній день біотехнології очищення стічних вод у розвинених країнах є найбільш високотонажними серед усіх існуючих технологій взагалі. Наприклад, в Англії біологічно очищають за добу більше води, ніж виготовляють сиру, молока, м'яса за рік.

Стічні води проходять через ємності, заповнені мулом, а потім очищена вода відділяється у відстійниках. Такі технології ефективні при очищенні побутових стоків. Активний мул складається, головним чином, з аеробних мікроорганізмів, тому важливим фактором його функціонування є аерація (насичення повітрям в аеротенках та киснем в окситенках). Тривалість процесу очищення від 4 до 48 годин.

Активний мул є амфотерною колоїдною системою; містить 70–90% органічних і 10–30% неорганічних речовин (суха речовина активного мулу). Крім живих організмів, в мулі міститься субстрат (до 40%) – різноманітні тверді залишки, до яких кріпляться мікроорганізми. Біоценоз активного мулу представлений мікроорганізмами та найпростішими.

Серед бактерій активного мулу особливо виділяються три групи: *зооглея* – це особлива форма флокуляції (утворення пухких скупчень) бактерій різної форми. При значному накопиченні зооглею в активному мулі можливе порушення седиментаційних властивостей; *сіркобактерії* зустрічаються при надходженні сірковмісних забруднювачів, у тому числі білків.

В силу того, що ці бактерії мають активний обмін речовин і високу окиснювальну здатність, розпушений мул працює значно ефективніше, ніж звичайний. Але при розвитку нитчастих бактерій всі інші організми витісняються з аеротенку. Тому дуже важливо дотримуватись правил технологічного режиму.

Достатня кількість елементів живлення для бактерій в воді, що очищується, визначається співвідношенням біологічне споживання кисню (БСК) : N : P. Під час очищення міських вод воно

має бути не менше 100 : 5 : 1. В реальних комунально-побутових стічних вод це співвідношення може змінюватись до 100 : 20 : 2,5. В промислових, наприклад, стічних водах нафтопереробного заводу воно становить 100 : 2,3 : 0,3.

В аеробних очисних спорудах вміст розчинного кисню в воді, що очищується, має бути не менш ніж 2 мг/дм<sup>3</sup>. Оптимальним вважається середовище з рН=6,5 - 7,5. Оптимальною температурою для аеробних процесів в очисних спорудах є 20–30 °С.

За наявності у стічних водах важких металів знижується біохімічна активність мулу і відбувається його спухання через інтенсивний розвиток нитчастих форм бактерій.

В активному мулі зустрічаються представники трьох класів найпростіших: саркодові (*Sarcodina*), джгутикові (*Mastigophora*), інфузорії підкласів війчастих (*Infusoria*) та сисних (*Ciliata* і *Suctorina*).

При використанні активного мулу є дві проблеми – надлишкова біомаса та ксенобіотики. При проходженні стоків через активний мул змінюється не лише хімічний склад води, але і видовий склад гідробіонтів.

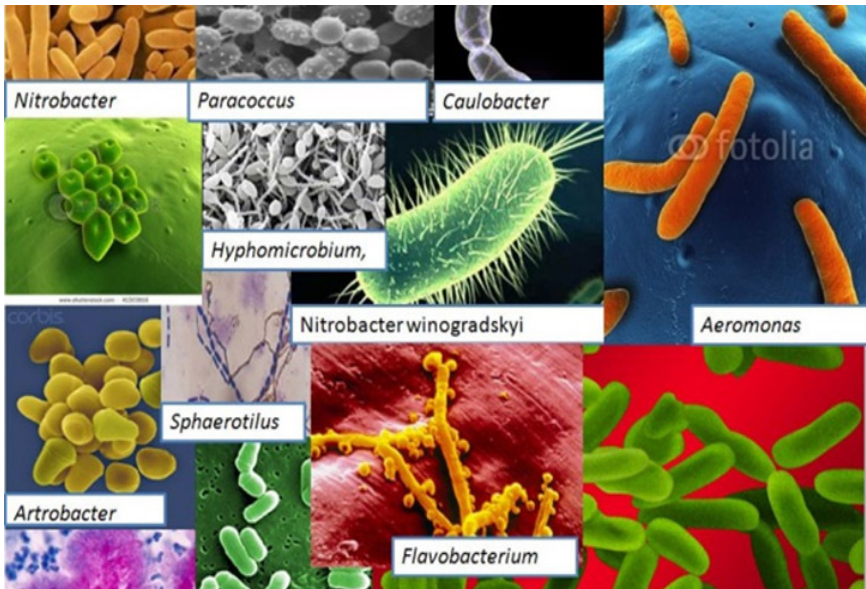
Частина надлишкової біомаси може бути використана як добриво, при умові відсутності патогенної мікробіоти та хімічного забруднення. Ксенобіотики, особливо у великих концентраціях, згубно діють на гідробіонтів активного мулу, призводячи до його загибелі. Відновлення активного мулу триває 2–3 місяці.

Біоплівки та активний мул утворені аеробними мікроорганізмами, серед яких чільне місце посідають найпростіші, гриби та бактерії (рис. 9).

Аеробні мікроорганізми ефективніші за аеробні (окиснююча здатність анаеробів сягає 60 кг ХСК/м<sup>3</sup> за добу; для біоплівки – 0,5 кг ХСК/м<sup>3</sup> за добу, для активного мулу – 2,5 кг ХСК/м<sup>3</sup> за добу).

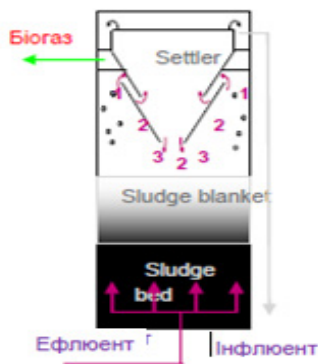
Революцію у використанні анаеробів зробив у 1980 р. Г. Леттінг, який запропонував технологію анаеробного гранульованого мулу. Він запропонував спеціальний очисний апарат – Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor, UASB-реактор.

Реактор UASB призначений для біологічного очищення СВ з використанням гранульованого активного мулу (UASB-реактор, рис. 10, 11).



**Рис. 9. Бактерії активного мулу**

[<https://acs-nnov.ru/aktivnyj-il-v-ochistnyh-sooruzheniyah.html>]



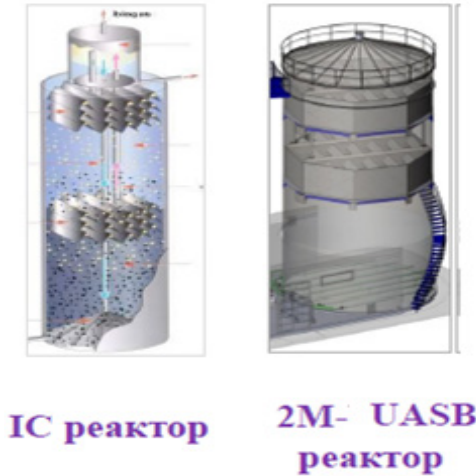
**UASB реактор**

**Рис. 10. Схема біореактора для біологічного очищення СВ з використанням гранульованого активного мулу (UASB-реактор)**

[<http://ecopro.nuft.edu.ua/images/summer/ppt/2/day2/pdf/luk.pdf>]

В UASB- реакторі висхідний потік СВ підтримує шар гранульованого мулу у завислому стані, забезпечуючи ефективний масообмін між мікробами і стоками.

Існуючі реактори з висхідним потоком СВ через шар гранульованого мулу (EGSB, IC) є різновидом UASB реактора (рис. 11).



**Рис. 11. Різновиди UASB-реактора для біологічного очищення СВ**

[<http://ecopro.nuft.edu.ua/images/summer/ppt/2/day2/pdf/luk.pdf>]

Нестерпний запах, що надходить від очисних споруд – це результат життєдіяльності анаеробних бактерій, що живуть упродовж усіх етапів формування, транспортування й очищення СВ.

В сучасних технологіях використовують як вільні, так і іммобілізовані (закріплені на різних поверхнях) анаеробні мікроорганізми.

В анаеробних умовах приріст біомаси надзвичайно малий. 59% енергії, що міститься в глюкозі, витрачається на приріст, а 41% розсіюється у вигляді тепла.

Мікроорганізми анаеробної активної біомаси розділяють на три групи: гідролітичні бактерії; гетероацетогенні бактерії; метаногенні бактерії. Для успішного існування популяції необхідні безкисневі умови, нейтральне або слаболужне середовище.

У септиках та метантенках використовують анаеробні мікроорганізми.

Переваги анаеробних технологій перед аеробними: економічно ефективніші – не потребують затрат енергії на аерацію; не забруднюють атмосферу аерозолями; утворюється в декілька разів менше біомаси; ефективні для сорбції іонів важких металів, деструкції ксенобіотиків; надзвичайно ефективні для очищення стічних вод з високим ступенем органічного забруднення, наприклад, відходів харчової промисловості, тваринницьких підприємств тощо.

У 1893 р. в Англії було вперше застосовано фільтрування стічних вод через завантаження, вкрите біологічною плівкою. У 1895 р. в м. Екзетер почали експлуатувати септик – споруду для анаеробного очищення побутових стічних вод. Через 4 роки септик побудували в м. Бомбей (Індія).

Септик – анаеробна установка невеликих розмірів. Може використовуватись в житлових будинках, АЗС, вуличних торгових центрах тощо. Септик досить простий в користуванні і ефективний у роботі (рис. 13).

В септику забруднена вода потрапляє з каналізації в ємність резервуара, далі на дно випадає осад з нерозчинних елементів, а решта води проходить процес бродіння під дією анаеробних бактерій. При цьому утворюється метан, який виводиться через спеціальну трубу, розташовану на висоті 1,5–2 м над дахом споруди.

Вода в такому септику очищається приблизно на 50–75%, а потім йде в ґрунт для повного очищення. Недоліком такого методу очищення стічних вод є необхідність періодично очищати септик від осілих домішок за допомогою асенізаційної машини.

Анаеробні біологічні очисні споруди (метантенки, анаеробні біореактори) очищують стічні води за рахунок життєдіяльності анаеробних мікроорганізмів, які в них перебувають у планктонному стані або у вигляді біоплівок.

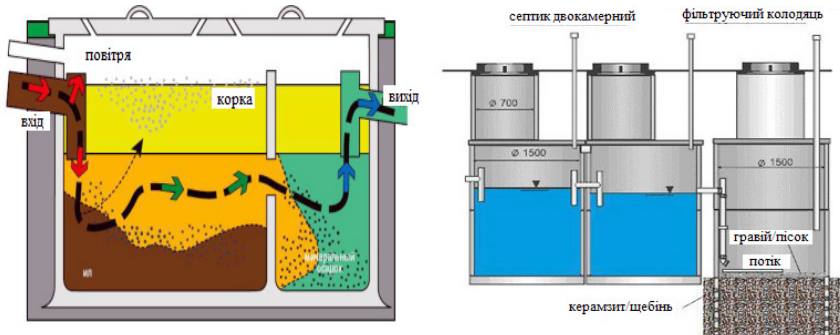
Метантенки (від англ. Methane – метан і англ. Tank – резервуар) – пристрій для анаеробного бродіння рідких органічних відходів з отриманням метану (анаеробний реактор камера, непроникна для повітря і води, у якій здійснюється метанове бродіння).

Метантенки є одними з важливих елементів біологічних



**Рис. 12. Біореактори для біологічного очищення СВ (метантенки)**

[<http://mastrekon.ru/wp-content/uploads/2013/10/metantenk1.jpg>]



**Рис. 13. Деякі схеми септиків для біологічного очищення СВ**  
 [<http://septikland.ru/septiki/shema-septika.html>]

очисних споруд, що засновані на окисленні органічних залишків з використанням мікроорганізмів. На відміну від аеротенків в них надходить, як правило, не сама стічна рідина, а концентрований осад, що випадає у відстійниках.

У метантенках органічні залишки переводяться в незагниваючу форму без доступу кисню. Конструктивно метантенк являє собою циліндричний або рідше прямокутний резервуар, який може бути повністю або частково заглиблений в землю (рис. 14).

Днище метантенка має значний ухил до центру. Покрівля метантенка може бути жорсткою або плаваючою. У метантенках з плаваючою покрівлею знижується небезпека підвищення тиску у внутрішньому об'ємі. Стінки і днище метантенка виконуються із залізобетону. Метантенк обладнується газовіддільниками з протиполум'яними пастками. Зверху в метантенк по трубі надходить осад і активний мул. Для прискорення процесу бродіння метантенк підігрівають, а вміст перемішують. Підігрів здійснюється водяним або паровим радіатором.

Метантенки – це герметичні закриті споруди, у яких перетворення органічних речовин забезпечується життєдіяльністю складного угруповання анаеробних мікроорганізмів (рис. 15).

В умовах відсутності кисню з органічних забруднювачів утворюються жирні кислоти, з яких при подальшому бродінні утворюється метан і вуглекислий газ. Метантенки та аналогічні анаеробні реактори використовуються не лише для утилізації складних органічних відходів, а й для отримання біогазу. Часто ці два завдання виконуються одночасно.

Дуже потужний імпульс розвитку технології поставив процес відкриття анаеробного гниття, після того як в кінці 19 століття було зроблено відкриття, що таким чином можна очищати стічні води [Барбара Едер, Хайнц Шульц, 1996].

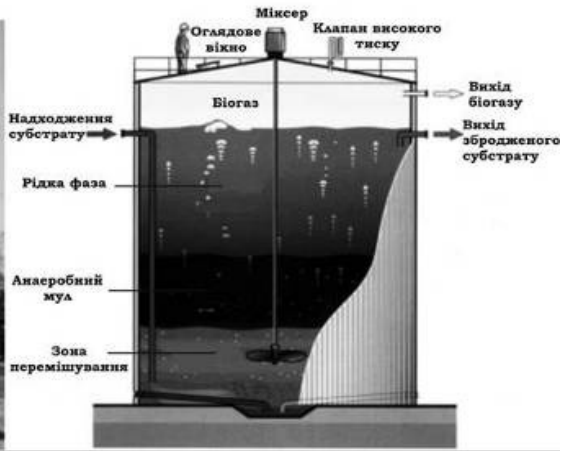
Вперше у Німеччині інженер з очисних споруд Імхофф з 1906 р на території регіону Рур почав систематичне будівництво анаеробних, двоярусних установок з очищення стічних вод, які отримали назву "емшерській колодязь" (рис. 16).

Назва Емшер спочатку мала річка, утворена внаслідок меліоративних робіт на емшерських копанках, але потім під час інтенсивного індустріального розвитку перетворилася в стічний канал,



**Рис. 14. Загальний вигляд метантенка**

[<https://smetdlysmet.ru/gesn-v-kartinkah/gesn-06/metantenki.html>]

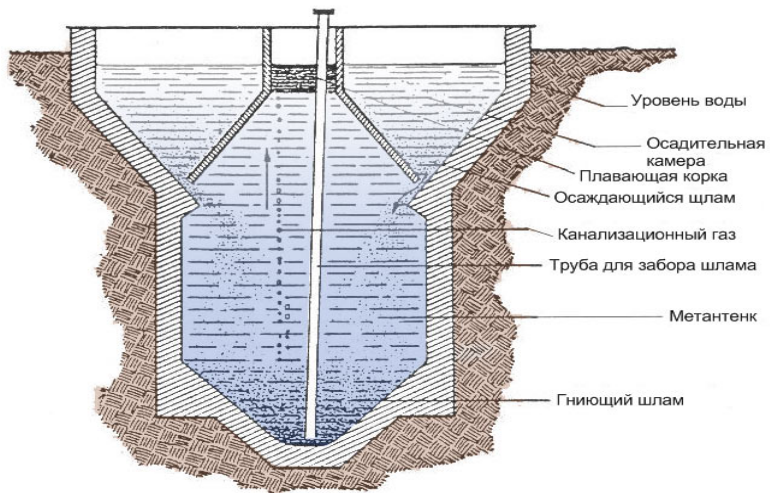


**Рис. 15. Загальний вигляд і схематична будова метантенка**

[*Барбара Едер, Хайнц Шульц, 1996*]

який обслуговував велику частину регіону [*Барбара Едер, Хайнц Шульц, 1996*]. Експерименти по метановому бродінню каналізаційних відходів інтенсивно почали проводитись в кінці XIX століття. В середині 1920-х років почалася промислова експлуатація метантенків в Німеччині, Великобританії, США і СРСР [*Гунтер Л. Л., Гольдфарб Л. Л., 1991*] (рис. 17).

Біологічні методи очищення СВ за дії селективних мікробних культур базуються переважно на використанні генетично модифікованих мікроорганізмів із заданими метаболічними властивостями.



**Рис. 16. Принцип работы "Емшерского колодезя"**  
 [Барбара Эдер, Хайнц Шульц, 1996]



**Рис. 17. Комунальна біогазова установка (анаеробний етап  
 очисної споруди)**  
 [Барбара Эдер, Хайнц Шульц, 1996]

Вперше метод селективних мікробних культур для очищення СВ розробила в кінці 50-х років ХХ століття українська дослідниця Н. Путиліна. Вона запропонувала використовувати спеціальний вид мікробів для очищення води від фенолу (дезінфектант, токсичний для звичайних мікробів).

В сучасних біотехнологіях очищення СВ застосовують п'ять біоценозів:

1. біоплівка;
2. активний мул;
3. гранульований мул (анаеробні мікроорганізми);
4. селекціоновані мікроорганізми – сорбенти іонів важких металів, деструктори органічних забруднень;
5. біоконвеєр (гідробіоценози, що становлять просторову сукцесію).

Ефективність перебігу процесів біологічного очищення залежить від хімічного складу води, наявності в ній біогенних елементів, вмісту кисню, токсичних речовин, значення рН, температури тощо.

Для нормального розвитку гідробіонтів, що здійснюють очищення води, в середовищі має бути достатня концентрація поживних речовин – органічного вуглецю, азоту, фосфору і мікроелементів.

Основним функціонуючим біоценозом біофільтрів, біоконтакторів є біоплівка, утворена різними видами біохімічно-активних мікроорганізмів. Біоплівка стійка до різних несприятливих умов навколишнього середовища, залпових навантажень, до тривалого впливу токсикантів, до будь-яких змін складу СВ (рис. 18).

Товщина біоплівки, яку утворюють мікроорганізми, залежить від величини питомої поверхні матеріалу, гідравлічного навантаження, концентрації органічних речовин, впливу факторів зовнішнього середовища.

Класичний біофільтр – це ємність, заповнена носієм, який обростає біоплівкою. Стічні води подаються зверху, а очищені відводяться знизу. Питома поверхня носія може сягати  $10\,000\text{ м}^2/\text{м}^3$ . Через високу швидкість проходження СВ біофільтр є ефективним при повторній рециркуляції.

Обертіві біоконтактори – це пристосування, на лопатях

яких прикріплюється біоплівка. Вони обертаються у товщі СВ, частково піднімаючись над їх поверхнею. Такі пристосування використовуються для невеликих об'ємів СВ.

Біологічний фільтр - споруда, в якому стічна вода фільтрується через завантажувальний матеріал, покритий біологічною плівкою (біоплівкою), утвореною колоніями мікроорганізмів (рис. 19).

Біоплівка являє собою щільний шар, що складається з клітин бактерій, здатних прикріплюватися до твердої поверхні і утворювати фіксовану полімерну плівку, яка перешкоджає її виносу (стадію формування біоплівки зображено на рис. 18.).

Біофільтр складається з наступних частин: фільтруючого завантаження, що вміщено в резервуар круглої або прямокутної форми; водорозподільного пристрою, що забезпечує рівномірне зрошення стічною водою поверхні завантаження біофільтра; дренажного пристрою для видалення очищеної стічної води; вентиляційного пристрою, за допомогою якого надходить необхідне для окисного процесу повітря [*Лыкова О.В., Гогина Е.С., 2009*].

У біофільтрах забруднена вода проходить через шар завантаженого матеріалу (роздроблені гірські породи, шматки пластмаси, синтетичні тканини тощо), вкритого біоплівкою. Інтенсивні процеси біологічного окиснення у біофільтрах відбуваються завдяки біоплівці, яка утворюється колоніями мікроорганізмів біоценозу.

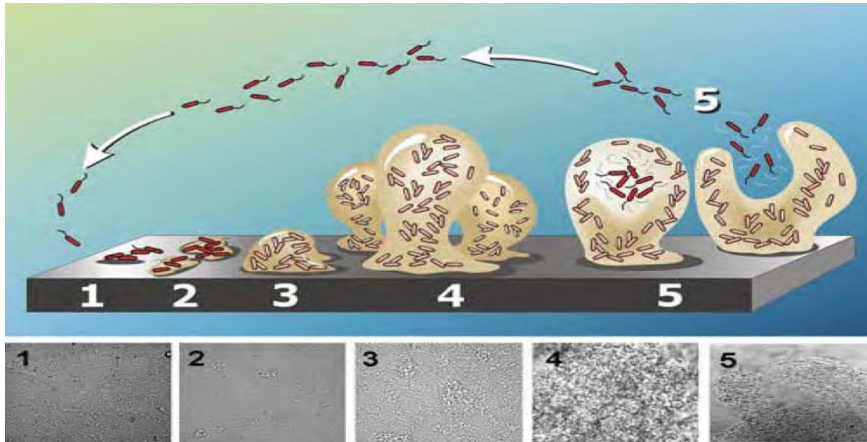
Біологічні фільтри мають ряд переваг: при експлуатації біофільтрів витрата електроенергії значно нижче, ніж при використанні аеротенків; біологічна фільтрація використовуються в важких ґрунтових умовах і в сейсмічних районах; екосистема-біофільтр відрізняється стійкою рівновагою, тобто здатністю за рахунок саморегулювання повертатися в початковий стан; час перебування води, що підлягає очищенню, в біофільтрі значно нижче, ніж в аеротенках.

Розглянемо класифікацію біофільтрів, а також переваги і недоліки [*Лыкова О.В., Гогина Е.С., 2009*].

Біофільтри підрозділяються:

*По виду завантаженого матеріалу:*

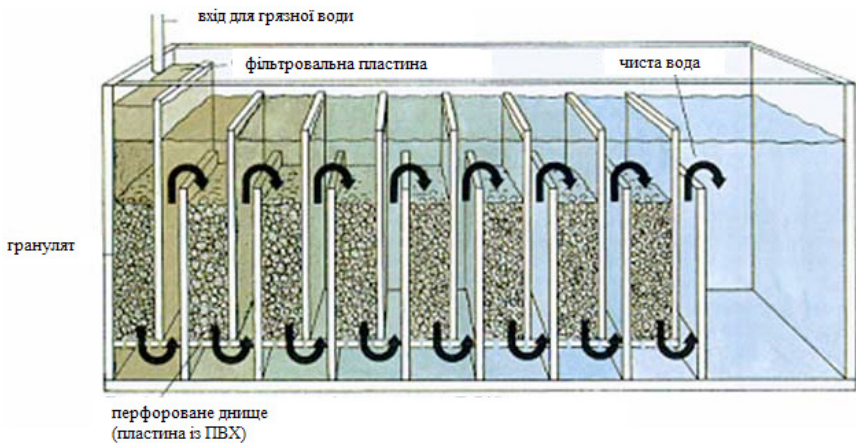
– З об'ємним завантаженням (гравій, шлак, щебінь тощо).



**Рис. 18. Стадії формування біоплівки**

[<https://present5.com/bioplyonki-lekciya-3-process-formirovaniya-bioplyonki-stadii/>]:

1 – первинне прикріплення клітин до поверхні; 2 – необоротне прикріплення; 3, 4 – стадії дозрівання; 5 – дисперсія біоплівки.



**Рис. 19. Схема роботи біофільтра**

[<http://vse-o-vode.ru/technology/biofilter-dlya-ochistki-stochnyx-vod/>]

1. Краплинні. Крапельний фільтр є найбільш поширеним реактором для очищення стоків за присутності біоплівки. Стічна вода подається у вигляді крапель або струменів. Знизу через фільтр подається постійний потік повітря. Розмір фракцій завантаження – 20–30 мм, висота шару завантаження – 1–2 м. Використовують при витраті стічних вод не більше 1000 м<sup>3</sup>/добу. Краплинний біофільтр забезпечує ефективну адгезію мікроорганізмів, достатній контакт між водою і біоплівкою і хорошу реаерацію води. Серйозним недоліком краплинного біофільтра є складність контролю за ростом біоплівки. При навантаженні органічними забруднювачами більше припустимого значення, завантажувальний матеріал швидко замулюється, робота фільтрів різко погіршується.

2. Високонавантажувані. Крупність фракцій – 40–60 мм, висота шару завантаження – 2–4 м. Відмінною особливістю цих споруд є висока, в порівнянні з краплинними біофільтрами, окиснювальна потужність, що обумовлено меншою замуленістю таких фільтрів і найкращим обміном повітря в них, що досягається завдяки великим фракціям завантаження.

3. Баштові. Крупність завантажувального матеріалу – 60–80 мм, висота шару завантаження – 8–16 м. Застосовуються для очисних станцій пропускної здатності до 50 000 м<sup>3</sup>/добу при сприятливому рельєфі місцевості і при БПК очищених стічних вод 20–25 мг/л.

– З плоским завантаженням (пластмаси, азбестоцемент, кераміка, метал і т.д). Пористість площинних завантажувальних матеріалів більш ніж вдвічі вище, ніж у об'ємних завантажень, що дозволяє відмовитися від примусової вентиляції.

1. З жорстким засипним завантаженням. Носієм завантаження можуть використовуватися керамічні, пластмасові та металеві засипні елементи.

2. З жорстким блоковим завантаженням. Блокові завантаження можуть виконуватися з різних видів пластмаси, а також з азбестоцементних листів.

3. З м'яким завантаженням. Виконана з металевих сіток, пластмасових плівок, синтетичних тканин, які кріпляться на каркасах або укладаються в рулонах.

До біофільтра з площинним завантаженням слід віднести і

занурювальні біофільтри.

Занурювальні біофільтри (у фільтрах цього типу завантаження розташовується нижче поверхні води). У порівнянні з аеротенками занурювальні біофільтри менш чутливі до токсичних органічних поллютантів тощо.

1. Біофільтри із стаціонарним завантаженням. Вода може подаватися як знизу, так і зверху, в фільтрах з нерухомим завантаженням очищення досягається під дією потоку води, що викликає ерозію біоплівки на підкладці. Занурювальні біофільтри витримують залпові надходження стічних вод.

2. Біофільтри з рухомих завантаженням (були розроблені тільки в 70-і рр)

А) Фільтри з псевдозрідженим шаром. Якщо швидкість висхідного потоку зростає вище того значення, при якому відбувається зсув, завантаження фільтра розширюється і для даної швидкості потоку через фільтр досягається рівновага між швидкістю висхідного потоку і швидкістю осідання частинок. Частинки завантаження фільтра роз'єднуються і обертаються в турбулентному висхідному потоці.

Б) Реактор зі зваженою біоплівкою. У реактор з виваженою біомасою спеціально поміщають інертний носій, на якому закріплюється біомаса. Поділ в такому реакторі поліпшується, тому що або навантаження "ускладнює" кожен частинку, або більші частинки з біоплівкою легше утримуються в реакторі. Для підтримки речовини в такому реакторі в підвішеному стані необхідні великі витрати енергії на створення турбулентного потоку.

В) Фільтр з розширеним шаром. Шар завантаження у фільтрі з висхідним потоком залишається нерухомим доти, поки градієнт тиску відносно малий.

Якщо ж тиск у верхній частині фільтру зрівняється з вагою розташованого вище шару завантаження, відбудеться зсув останнього, контакт між окремими частинками завантаження порушується, і вони стають рухливими. Частинки, що заповнюють біофільтр, весь час труться одна об одну, і біоплівка залишається тонкою.

Показано роль вищих водних рослин і супутніх гідробіонтів (бактерій, безхребетних, риб) у функціонуванні природних і

штучних біоплато як чинника, що утворює середовище, у процесах відновлення якості водного середовища. [*Природні і штучні біоплато, 2012*].

### **2.3. Блочно-модульні споруди біологічного очищення стічних вод**

Найбільш поширені конструкції блочно-модульних установок – споруд біологічного очищення на основі аеротенків і дискових біофільтрів представлено в роботі *Серебрякова Д.В., Морозова В.В., 2008*.

Локальні очисні споруди з аеротенками. Установки зазвичай комплектуються спорудами механічного очищення (часто без первинних відстійників) і вузлом доочищення та знезараження стічних вод. Самі споруди біологічного очищення можуть бути:

- проточними (за принципом аеротенк – вторинний відстійник);
- періодичної дії (SBR–реактори).

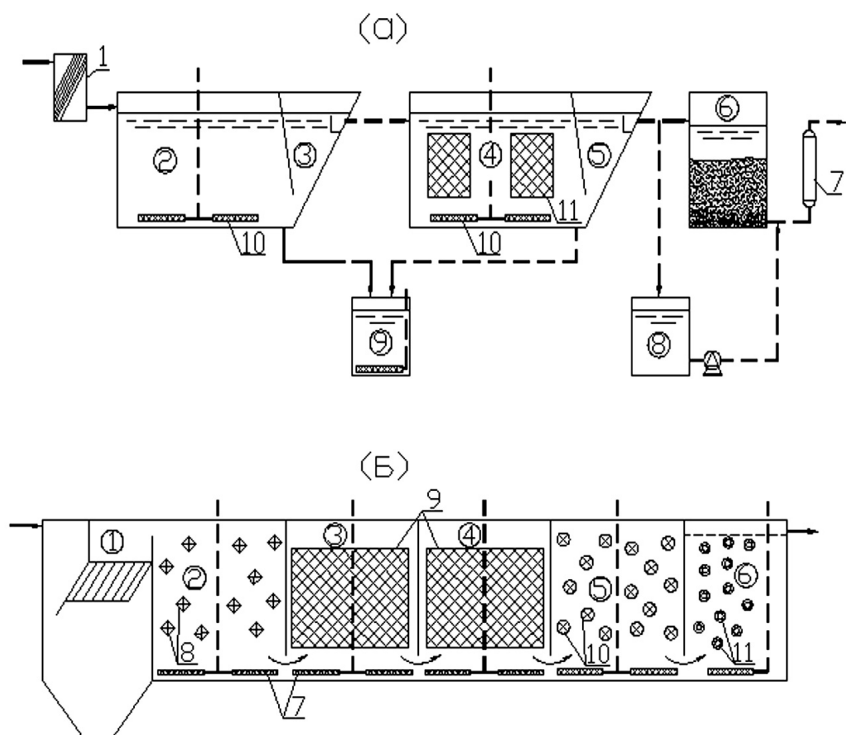
Реактори періодичної дії прості конструктивно, але вимагають більш складної системи автоматики в порівнянні з аеротенками-витискувачами. Для роботи таких установок необхідна наявність двох паралельно працюючих реакторів. Технологічні схеми модульних установок з біологічним очищенням безперервної дії досить сильно різняться у різних виробників, але можуть бути поділені на одноступеневі і багатоступеневі. У багатоступеневих схемах послідовно розташовані аеротенки розділені проміжними (вторинними, третинними) відстійниками (рис. 20, а).

Такі споруди більш ефективні при очищенні СВ, що характеризуються різними змінами концентрації забруднень (наприклад, при періодичному скиданні в них висококонцентрованих стоків, привезених асенізаційною машиною з септиків тощо), а також наявністю токсичних і важкоокиснювальних сполук.

Надходження таких СВ на очисні споруди призводить до спухання мулу, і застосування багатоступеневих схем є найбільш ефективним заходом боротьби з цим явищем.

Однак такі споруди більш складні в експлуатації і вимагають більшого обсягу ємнісних споруд в порівнянні з одноступе-

невими схемами. Поширеним рішенням, яке часто застосовується виробниками модульних очисних споруд, є поділ аеротенків перегородками на кілька окремих відсіків (рис. 20, б).



**Рис. 20. Варіанти технологічних схем блочно-модульних очисних споруд [Серебряков Д.В., Морозов В.В., 2008]:**

а – двоступенева схема:

1 – механічне очищення (решітка); 2 – аеротенк I ступеня; 3 – вторинний відстійник; 4 – аеротенк II ступеня; 5 – третинний відстійник; 6 – фільтр;  
7 – знезараження ультрафіолетом; 8 – резервуар промивної води; 9 – аеробний стабілізатор; 10 – аераційна система; 11 – завантаження.

б – секціонований блок біологічного очищення:

1 – механічне очищення (первинний відстійник); 2,3,4,5 – секції аеротенка (гідролізер–ферментатор, гетеротрофний нітрифікатор/денітрифікатор, гетеро/автотрофний нітрифікатор/денітрифікатор); 6 – фільтр-біосорбер;  
7 – аераційна система; 8,10, 11 – різні типи плаваючих завантажень;  
9 – блокове завантаження.

Однак такі споруди навряд чи можна називати багатоступенивими. У більшості модульних споруд біологічного очищення відношення довжини до ширини аеротенка відносно невелике.

При експлуатації установок зі схемою руху води, коли перетікання мулової суміші із секції у секцію здійснюється через придонні вікна, виникає ще одна проблема – після того, як блокове завантаження забивається відмерлою біомасою, циркуляція води через неї припиняється, і весь потік рідини проходить під нею транзитом, таким чином робочий об'єм аеротенка значно скорочується.

Альтернативою такому секціонуванню може бути використовувана в Фінляндії схема з установкою декількох аераторів по довжині аеротенка з проміжками між ними, так, щоб інтенсивність перемішування в цих проміжках значно знижувалася. Таке рішення також запобігає проскакуванню неочищеної СВ, при цьому відсутня необхідність в установці додаткових перегородок [Серебряков Д.В., Морозов В.В., 2008].

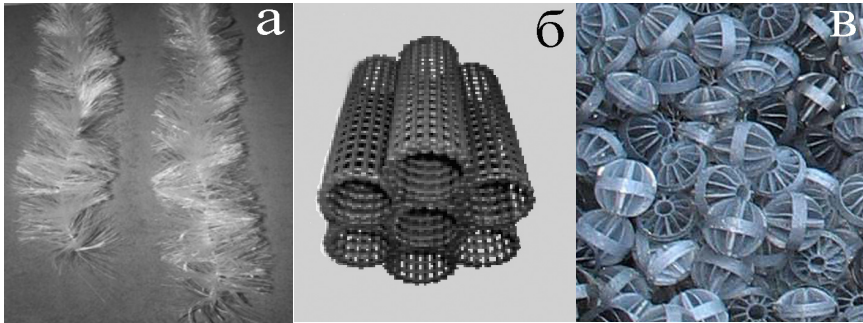
Наявність прикріпленої біомаси в аеротенках очисних споруд малої продуктивності дозволяє їм краще переносити перерви в подачі СВ (рис. 21).

Локальні очисні споруди з дисковими біофільтрами. Дискові біофільтри є споруди біологічного очищення СВ, що мають ознаки як біофільтра, так і аеротенка.

З біофільтрами їх ріднить наявність контактної поверхні, на якій відбувається іммобілізація біоплівки, і відсутність примусової аерації.

Схожість з аеротенками обумовлена наявністю заповненого стічною водою резервуара з вільно плаваючими частинками біоплівки. СВ надходять в резервуар, в який опущений обертовий ротор із закріпленими на ньому дисками, що мають зазвичай гофровану поверхню, так, щоб верхня частина дисків знаходилася над водою, в той час як нижня частина дисків занурена в стічну рідину.

На поверхні дисків розвивається біоплівка, близька за видовим складом мікроорганізмам біоплівки біофільтрів з об'ємною або площинним завантаженням (рис. 22).



**Рис. 21. Види завантажень - носіїв прикріпленою біомаси:**  
 а – ершове завантаження (штучні водорості); б – завантаження у вигляді порожніх перфорованих трубок; в – рухливе плаваюче завантаження [Серебряков Д.В., Морозов В.В., 2008].



**Рис. 22. Зовнішній вигляд дискових біофільтрів**  
 [Серебряков Д.В., Морозов В.В., 2008]

У міру зростання товщини біоплівки на поверхні дисків частина її, в тому числі та, що відмерла, відривається і переходить в стічну рідину, де знаходиться в підвішеному стані подібно пластівцям активного мулу, таким чином процес очищення СВ здійснюється не тільки на поверхні контакту дисків зі стоками, але і в об'ємі стічної рідини, що знаходиться в резервуарі під дисками.

Товщина біоплівки, що утворюється на дисках, залежить від таких факторів, як склад і температура СВ, швидкість обертання ротора, площа поверхні біодисків, і може досягати декількох міліметрів.

Питома кількість біомаси, що припадає на одиницю об'єму споруди, у дискових біофільтрах значно менше, ніж у аеротенках, отже і окиснювальна здатність нижче.

Одним з основних недоліків таких установок є відсутність технічної можливості регулювання і підтримки необхідної кількості розчинного кисню, оскільки швидкість обертання ротора постійна.

Перевагами таких установок, особливо важливими для споруд малої продуктивності, є можливість тривалої роботи без припливу СВ, що не супроводжується відмиранням біоценозу, а також допустимість великих гідравлічних перевантажень, викликане набагато меншою кількістю плаваючою біомаси. Крім того, вони відрізняються від аеротенків меншою кількістю та вологістю утвореного осаду [*Серебряков Д.В., Морозов В.В., 2008*].

Даним спорудам в процесі експлуатації притаманні проблеми, подібні до проблем, що виникають при експлуатації аеротенків, які оснащені завантаженням - носієм з прикріпленою біомасою.

За відсутності первинного відстоювання відбувається загнивання біомаси на дисках, і междисковий простір замулюється слизистою масою, яка має гнильний запах. В результаті цього порушується гідравлічна схема роботи дискових біоносіїв (рис. 22), оскільки не відбувається плівкового обтікання поверхні дисків.

При наявності в блоці біологічного очищення носія з прикріпленою біомасою більш ретельні вимоги повинні пред'являтися до попереднього механічного очищення СВ. Повинна бути передбачена періодична промивка завантаження під час спороження споруди.

Ефективне біологічне доочищення СВ на модульних очисних спорудах малої продуктивності доцільно здійснювати на зернистих фільтрах.

Локальні очисні споруди з дисковими біофільтрами мають експлуатаційні переваги для об'єктів з малим об'ємом водовідведення, полягають в набагато більш м'яких вимогах до режиму надходження СВ, проте вони не розраховані на досягнення сучасних вимог до ступеня очищення СВ, тому їх можна рекомендувати тільки для об'єктів сезонної дії [*Серебряков Д.В., Морозов В.В., 2008*].

### РОЗДІЛ 3

## БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЧИЩЕННЯ СТИЧНИХ ВОД ВІД ПОЛІЦИКЛІЧНИХ АРОМАТИЧНИХ ВУГЛЕВОДНІВ

### 3.1. Біодеструкція поліциклічних ароматичних вуглеводнів

Основними мінералізаторами поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ) в природі є бактерії. Здатність бактерій швидко адаптуватися до нових умов навколишнього середовища та набір ферментних систем дозволяють їм використовувати різні органічні сполуки, в тому числі і ПАВ, в якості джерела енергії і карбону, трансформуючи токсичні, канцерогенні і мутагенні речовини до простих сполук [Mastrangela, G., Fadda, E. and Marzia, V., 1996; Ortega-Calvo J.J., Alexander M., 1994; Hohzoh Kiyohara et al., 1976; Nie M., Nie H. et al., 2016; Kästner M, Mahro B., 1996].

Дослідження біодеструкції ПАВ вимагає детального вивчення кометаболічного розкладання ксенобіотиків. Це питання є актуальним, так як більшість мікроорганізмів – деструкторів поліциклічних аренів здатні розкласти суміші ароматичних ксенобіотиків [Павленко М.І. та ін., 2007]. Процес розкладання ПАВ забезпечується комплексом ферментів [Балашова Н.В., Кошелева І.А., Філонов А.Є., 1997; Hohzoh Kiyohara et al., 1976; Grifoll M. et al., 1995].

У монографії [Gudzenko Tatyana, Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja, et al., 2018] показано, що на початковому етапі аеробного кометаболічного розкладання ПАВ відбувається їх окиснення до дигідродіолів. Дигідроксильовані проміжні продукти можуть трансформуватися за орто- або мета-шляхом, що призводить до утворення протокатехолів і катехолів, які потім перетворюються проміжними ланками циклу трикарбонкових кислот.

Автори роботи [Mahaffey W.R. et al., 1988] вперше запропонували схему одного з шляхів біодеструкції високомолекулярних аренів.

Встановлено, що штам *Sphingomonas yanoikuyae* [Khan A.A. et al., 1996] після індукування біфенілом, м-ксилолом і саліцилатом, набув здатності окиснювати бенз[а]антрацен до трьох

о-гідроксиполіароматичних кислот, які за допомогою методів ядерно-магнітного резонансу і мас-спектральних досліджень визначені як 1-гідрокси-2-антранілова кислота, 2-гідрокси-3-фенантролінова і 3-гідрокси-2-фенантролінова кислоти.

На сьогоднішній день в літературі є незначна кількість інформації про біодеструкцію ПАВ [Павленко М.І. та ін., 2007; Ortega-Calvo J.J., Alexander M., 1994; Hohzoh Kiyohara et al., 1976].

Більшість з цих робіт присвячено вивченню деструкції бенз[а]пірену, який є потенційно небезпечним для здоров'я людини. Ця речовина канцерогенна і може стимулювати розвиток неоплазії.

Дослідження показали значну стійкість бенз[а]пірену до окиснення в навколишньому середовищі [Cerniglia C.E. 1992; Павленко М.І. та ін., 2007]. Метаболізм бенз[а]пірену відбувається в умовах кометаболізму.

До сих пір не виявлено, щоб бенз[а]пірен використовувався як єдине джерело карбону та енергії чистими або змішаними культурами бактерій. В роботі J. Schneider з співавторами [Schneider J. et al., 1996] описані продукти окиснення бенз[а]пірену культурою *Mycobacterium* sp. RJGII-135, яку вирощували на суміші дріжджового екстракту, пептону і розчинного крохмалю.

За методом мас-спектрометрії ідентифіковано метаболіти: цис-7,8-бенз[а]пірен-дигідродіол, 4,5-крізендикарбонова кислота, цис-4(8-гідроксіпірен-7-іл)-2-оксо-3-бутенова кислота й інші кислоти. Однак автори не визначили, як відбувається окиснення: мета- (через 7,8 зв'язок) або орто-шляхом (через 9,10 зв'язок), тому можлива наявність двох продуктів метаболізму [Schneider J. et al., 1996].

М.А. Бабошин з співавторами запропували шляхи біодеструкції фенатрену і антрацену культурами *Rhodococcus rhodii* 135, *P. fluorescens* 26K і *Arthrobacter* sp. K3 [Бабошин М.А. и др., 2005].

Біодеградація поліциклічних ароматичних вуглеводнів протікає за механізмом, аналогічним розщепленню моноциклічних вуглеводнів [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018].

Мікроорганізми починають руйнувати по черзі ароматичні кільця до тих пір, поки не утворяться карбонові кислоти, які можна використовувати для енергетичного і синтетичного метаболізму (рис. 23).

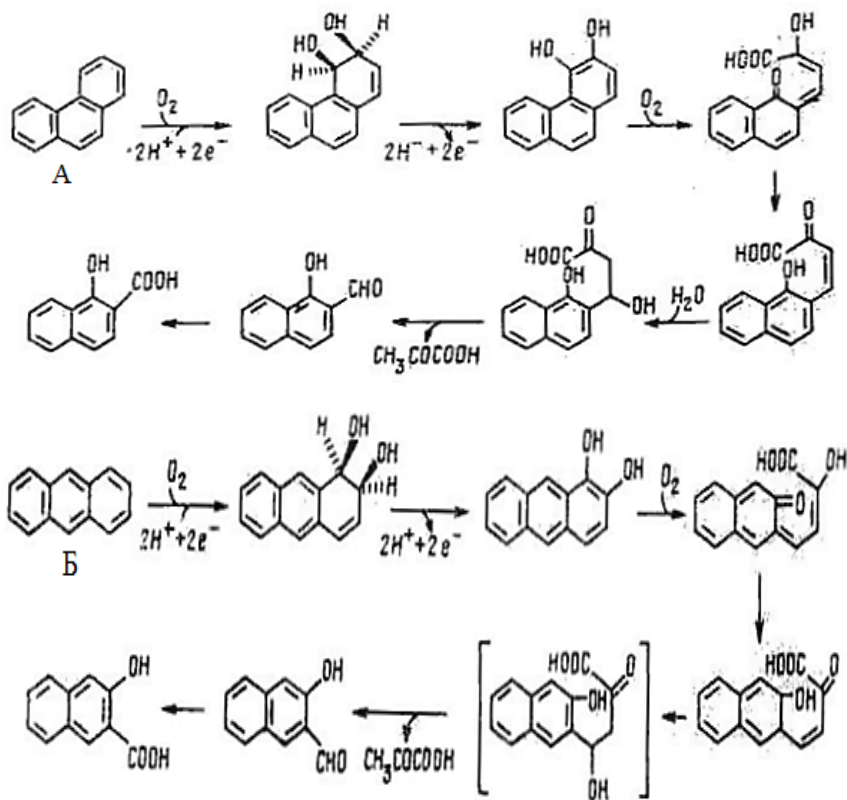


Рис. 23. Біодеградація фенантрєну (А), антрацену (Б)

З ґрунту виділено культуру *Alcaligenes denitrificans* WW1, що здатна розкласти фенантрєн, флуорєн і флуорантен [Weissenfels W.D., Beyer M., Klein J., 1990].

Показано можливiсть бiодеструкцiї ПАВ асоцiацiєю бактерiй, до складу якої входить штамп *Pseudomonas paucimobilis* EPA505 (здатний використовувати флуорантен як єдине джерело карбону та енергiї) [Mueller J.G. et al., 1990; Mueller J.G. et al., 1989].

За дiї штаму *Pseudomonas paucimobilis* EPA505 спостерiгалось зменшення концентрацiї флуорантену у водному розчинi, збiльшення бактерiальної маси. Цей штамп також був досліджений

на здатність до деструкції бенз[b]флуорену, бенз[a]антрацену, кризену і пірену. Виявлено, що всі ці сполуки (вони були мічені радіоактивним ізотопом  $^{14}\text{C}$ ), крім пірену, кометаболічно окиснювались, про що свідчило наявність  $^{14}\text{CO}_2$  в газовій фазі [Dingyi Ye. et al., 1995].

Встановлено, що штам *Mycobacterium* sp. PYR-1 здатний розкласти до 95% флуорантену з концентрацією 17 мг/л за 24 години. Серед продуктів метаболізму було виявлено 9-флуоренон-1-карбонову кислоту, пізніше ідентифіковано 8-гідрокси-7-метоксифлуорантрен, 9-гідроксифлуорен, 9-флуоренон, 1-ацетонафтенон, 9-гідрокси-1флуоренкарбонову кислоту, фталеву кислоту, 2-оксибензальдегід, бензойну кислоту, адипінову і фенілоцтову кислоти [Kelley I, Cerniglia C E., 1995].

Запропоновано схему біологічного розкладання флуорантену [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018; Schocken M.J., Gibson D.T., 1984].

Показана пірен-окиснююча активність деяких штамів, в тому числі штаму *Mycobacterium* sp., виділеного з донних відкладень водойми на території видобутку вугілля [Heitkamp M. A., Cerniglia C. E., 1988; Heitkamp M. A. et al., 1988, 1989]. За допомогою рідинної хроматографії високого тиску визначено три продукти метаболізму цієї речовини: цис-4,5-пірендигідродіол, транс-4,5-пірендигідродіол і піренол. Інші чотири продукти – 4-гідроксиперінафтенон, 4-фенантраценова, фталева і коричнева кислоти виявлені завдяки спектрофотометричним дослідженням в ультрафіолетовій зоні, ЯМР, газової хроматографії та мас-спектрометрії. Основним метаболітом, ідентифікованим у великій кількості, була 4-фенантренова кислота.

Виявлення в культуральному середовищі цис- і транс-4,5-дигідродіолів дало підставу запропонувати різні шляхи біодеструкції пірену на початкових стадіях окиснення. Розкладання пірену бактеріальною асоціацією, в складі якої був штам *Mycobacterium* sp., було кометаболічним. Збільшення концентрації поживних речовин в мікрокосмі призводило до зменшення деструкції, що пов'язано зі швидким зростанням біомаси тих бактеріальних культур, які використовують в процесі метаболізму більш доступні речовини, ніж пірен, тим самим пригнічуючи розвиток

*Mycobacterium* sp. [Heitkamp M. A., Cerniglia C. E., 1988; Heitkamp M. A. et al., 1988].

Механізм бактеріальної деструкції пірену детально представлений в [Cerniglia C.E., 1992; Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018]. Ключові моменти біодеградації підтверджено після ідентифікації метаболітів, виділених з культурального середовища з піреном після інкубації штамів: *Mycobacterium* sp. RJGII-145, *Mycobacterium flavescens* [Dean-Ross D., Cerniglia C.E., 1989, 1992], *Mycobacterium* sp. KR2 [Rehmann K, Noll H. P., 1998]. Дослідниками [Grosser R.J., Warshawsky D., Vestal J.R., 1991; Schneider J, Grosser R, 1996] також виділено з ґрунту штам *Mycobacterium* sp. RJGII-135, який був здатний використовувати пірен як єдине джерело карбону та енергії. Автори ідентифікували три проміжних продукти розкладання пірену: 4-фенантренкарбонова кислота, 4,5-пірендигідродіол [Heitkamp M. A., Franklin W, 1988. – Vol. 54. – P. 2549–2555.; Cerniglia C.E., 1992].

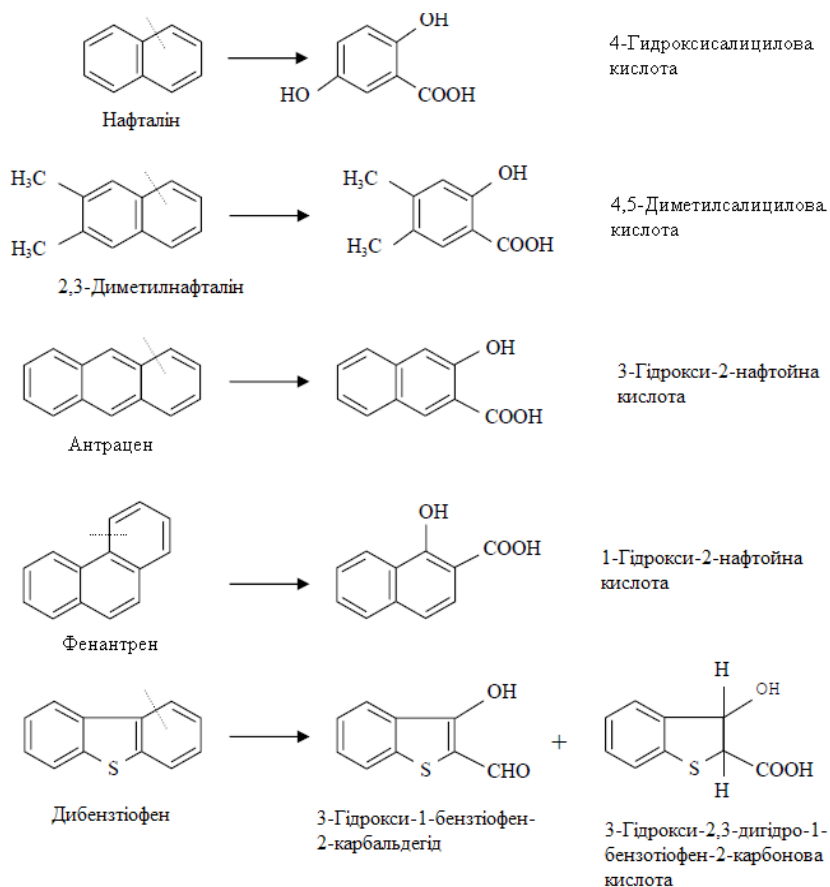
М. Grifoll з співавторами [Grifoll M. et al., 1995] запропонували схему початкової фази деструкції нафталіну, 2,3-диметилнафталіну, антрацену, фенантрена та дибензтіофену (рис. 24).

Формування цих метаболітів пояснюється діоксигеназним розривом ароматичного кільця.

Запропоновано метаболічний шлях утилізації флуорену культурою *P. sepracia* F297 [Grifoll M. et al., 1995]. Штам *P. sepracia* F297 володів властивістю використовувати в процесі метаболізму широкий спектр ароматичних сполук, включаючи нафталін, 2,3-диметилнафталін, фенантрен, антрацен і дибензотіофен.

Бактерії *P. sepracia* F297, індуковані флуореном, були здатні утилізувати 2,6-диметилнафталін, біфеніл, дибензофуран, аценафтен і аценафтілен. Ідентифікація продуктів, які утворювалися в культуральному середовищі в процесі їх біодеструкції вказувала на те, що ферментний комплекс штаму *P. sepracia* F297 ініціював такі реакції: як окиснення і розрив ароматичних кілець (очевидно, з використанням пірувату для росту), окиснення метилових груп, метиленових груп та гетероциклів сірки.

Досліджувана культура *P. sepracia* F297 була здатна розкладати ПАВ, які входять до складу креозоту. Існують дані, що свідчать про те, що в чистих культурах штам, який був здатний до



**Рис. 24. Метаболіти, ідентифіковані в культуральній рідині після інкубації культури *P. seipacia* F297 з різними субстратами [Griffoll M., Selifonov S.A. et al., 1995]**

розкладання одних аренів, приводив до деструкції інших аренів, що пов'язано з процесами співокиснення, коли продукти деструкції одних ароматичних сполук викликають розкладання інших [Балашова Н.В. та ін., 1997; Kelley I, Cerniglia C. E., 1995].

Експериментально встановлено, що біорозкладання фенантрени культуурою *Pseudomonas fluorescens* 3 може йти шляхом утворення, з одного боку, 1-[(Е)-2-карбоксивініл]-2-нафтоїної

кислоти, з іншого – (2-гідрокси-1-нафтил) – 2-оксобут-3-енової кислоти [Павленко М.І. та ін., 2007].

В процесі деструкції фенантрону культурою *Pseudomonas fluorescens* 3 спостерігалося утворення щавлевої кислоти і 1,2-дикарбоксинафталіну, малонової кислоти та 1-гідрокси-2-нафтоїної кислоти, оксомалонової і 2-гідроксинафтоїної кислоти.

Маленова кислота під дією малонілдекарбоксілази перетворюється в піруват, а з оксомалонової кислоти після декарбоксілювання утворюється гліоксилова кислота. Піруват, щавлева і гліоксилова кислоти в подальшому використовуються бактеріальною клітиною як в біосинтетичних, так і в енергетичних процесах, залучаючись до циклу трикарбонових кислот [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018].

Високомолекулярні сполуки, які утворювалися на початкових стадіях окиснення фенантрону, були нестійкими за дії штаму *P. fluorescens* 3. Процес біодеструкції за участю цього штаму протікав з утворенням кінцевих продуктів –  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$  [Павленко М.І. та ін., 2007].

### **3.2. Вплив поверхнево-активних речовин і гумінових речовин на деструкцію поліциклічних ароматичних вуглеводнів**

Низька розчинність поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ) у воді обмежує їх доступність для мікроорганізмів-деструкторів ПАВ. Для підвищення біодоступності та прискорення біодеструкції ПАВ авторами роботи [Павленко М.І. та ін., 2007; Abriola L.M. et al., 1993] було запропоновано використання поверхнево-активних речовин (ПАР).

Завдяки своїм унікальним колоїдно-хімічним властивостям ПАР перешкоджають адсорбції поліциклічних ароматичних вуглеводнів, а явище солюбілізації збільшує біодоступність цих ксенобіотиків для мікробних клітин. Як було зазначено вище, ПАР синтетичного походження, особливо ароматичні, самі є досить стійкими забруднювачами водних і земельних ресурсів. Тому найбільш корисно використовувати мікроорганізми, які здатні самостійно синтезувати біосурфактанти і одночасно мінералізувати

поліциклічні ароматичні вуглеводні.

Поверхнево-активні речовини біологічного походження не є ксенобіотиками і не викликають забруднення навколишнього середовища. Вивчення бактеріальних культур, які були б здатні до синтезу біосурфактантів, здатних солюбілізувати поліциклічні ароматичні вуглеводні, є корисним для прискореного відновлення забруднених зон навколишнього середовища [Павленко М.І. та ін., 2007].

Поліциклічні ароматичні вуглеводні можуть зв'язуватися в ґрунтах та донних відкладеннях із сполуками типу гумінових речовин. Утворення комплексів ксенобіотиків з макромолекулярною органічною речовиною вимагає більш детального вивчення хімічної структури цих речовин для пошуку можливих підходів до їх мінералізації. Взаємодія ПАВ та їх метаболітів з макромолекулярною органічною речовиною по типу хімічного зв'язку може бути як ковалентним (складні ефіри, ефіри, зв'язок карбон-карбон), так і нековалентним (гідрофобна сорбція, водневий зв'язок тощо).

Залежно від характеру зв'язку ПАВ з іншою органічною речовиною змінюється і швидкість мінералізації таких комплексів. У першому випадку (утворення ковалентного зв'язку) швидкість мінералізації в новоутворених речовинах може значно знижуватися [Richnow, H.H. et al., 1997]. А що стосується утворення комплексів арен-гумінова речовина за допомогою нековалентному зв'язку, то тут дослідження вказують на значне прискорення мінералізації поліциклічних ароматичних речовин [Richnow H.H. et al., 1994].

Кількісні аспекти трансформації поліциклічних аренів (формування продуктів біологічної трансформації) досліджено за допомогою мічених атомів карбону ( $^{14}\text{C}$ ) [Willumsen P.A., Karlson U., 1997].

При вивченні мінералізації нафталіну у фазах тверда речовина-рідина і рідина-рідина встановлено збільшення електрохімічного потенціалу субстрату, на якому закріплювалися клітини *Pseudomonas putida*. Імобілізовані бактерії мінералізували нафталін в міжфазах з більш високою швидкістю в порівнянні з його мінералізацією за звичайних умов – у стані вільних клітин.

Збільшення деструктивної активності бактерій реєструвалося також при сорбції нафталіну на частинках ґрунту [Ortega-Calvo J. J., Alexander M., 1994] і глини в присутності поверхнево-активних речовин [Павленко М.І. та ін., 2007].

В роботі J. Ortega-Calvo і С. Saiz-Jimenez [Ortega-Calvo J.-J., Saiz-Jimenez C., 1998] показаний процес мінералізації фенантрону при наявності гумінових фракцій і глини штамом *P. fluorescens*, який був виділений з ґрунту. Гумінові кислоти і глина в комбінації значно скорочували період адаптації бактеріальної культури і прискорювали процес біологічної деструкції фенантрону.

Гумінові кислоти у концентрації 10 г/л стимулювали деструкцію поліциклічних ароматичних речовин лише за наявності компонентів глини в концентрації 10 г/л. Висока швидкість мінералізації зареєстрована при підвищеній концентрації гумінових речовин до 100 мг/мл.

Сорбція фенантрону на цих компонентах ґрунту може привести до високої концентрації субстрату навколо бактеріальних клітин. Це в свою чергу збільшує біодоступність субстрату.

Прискорену трансформацію забруднення при наявності міжфазових взаємодій спостерігали при мінералізації фенолу [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018; Kästner M., Mahro B., 1996], поліциклічних ароматичних сполук [Woo S.H. et al., 2001].

## РОЗДІЛ 4

### БІОТЕХНОЛОГІЯ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД ВІД ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

#### 4.1. Мікробіологічні способи очищення стічних вод від ароматичних поверхнево-активних речовин

Проблема пошуку ефективного способу очищення води від широко розповсюджених в різних промисловостях важкоокиснювальних ароматичних ПАР деяких представників катіонних ПАР – N-цетилпіридиній бромистого, неіоногенних ПАР – оксиетильованих алкілфенолів; аніонних ПАР – алкілбензолсульфонатів тощо, є актуальною.

На сьогоднішній день мікробіологічний спосіб очищення води від ксенобіотиків, що базується на використанні потенціалу гетеротрофних непатогенних біохімічно-активних мікроорганізмів, здатних як субстрат для росту і розвитку споживати широкий асортимент органічних сполук, в тому числі і циклічні ароматичні ксенобіотики, є самими екологічним, надійним, енергонезалежним способом, не створює вторинних небезпечних відходів, не потребує використання агресивних реагентів і додаткових окиснювачів, здатних перетворювати органічні політанти у більш токсичні проміжні продукти окиснення.

Дослідження розкладання ПАР чистими культурами мікроорганізмів показали, що *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Paracolobactrum aerogenoides* при вирощуванні на синтетичному середовищі можуть використовувати різні аніонні ПАР в якості єдиного джерела карбону і енергії [Ротмистров М.Н., Гвоздяк П.И. и др., 1978]. Існують відомості про здатність *Pseudomonas putida* ТП-19 (В-6582) деградувати неіоногенні і аніонні ПАР [Турковская О.В., 2000].

Аналіз даних літератури показує, що в природі досить часто зустрічаються мікроорганізми, здатні руйнувати біологічно «м'які» ПАР, і набагато рідше – «жорсткі», до яких належать ароматичні ксенобіотики, представник катіонних ПАР N-цетилпіридиній бромистий (N-ЦПБ) або N-цетилпіридиній хлористий

(N-ЦПХ) зокрема. N-ЦПБ ( $[C_{16}H_{33}N^+C_5H_5]Br$ ) має порошковий вигляд, гігроскопічний, при певних умовах добре розчиняється у хлороформі, погано в бензолі і практично не розчиняється у диетилловому ефірі. Виявляє порівняно з первинними, вторинними і третинними алкіламінами більш основні властивості та в досить широкому діапазоні значень рН середовища знаходиться в іонній формі. Підлягає деструкції лише при рН >9. Під дією лугів на N-ЦПБ відбувається гідролітичне розщеплення піридинієвого кільця з утворенням первинного гексадециламіну  $C_{16}H_{33}NH_2$  і 5-гідрокси-2,4-пентадієналю (фенольна форма глутаконового альдегіду) [Bunting J.W., 1975].

Відомо, що чим більше ксенобіотик відрізняється від природних субстратів і метаболітів основного обміну, тим менше ймовірність широкого поширення штамів, здатних до його утилізації. Лише там, де має місце тривалий контакт мікроорганізмів, що володіють високою гнучкістю метаболічних реакцій, з відповідним ксенобіотиком, можливе формування штамів-деструкторів [Ставская С. С. и др., 1988]. Такими об'єктами є забруднені ґрунти, стічні води і активні мули очисних споруд.

Проте, навіть з таких джерел, де існує багатокомпонентне забруднення (наявність іонів важких металів, фенолів, синтетичних ПАР тощо), не завжди вдається виділити біохімічно активний мікроорганізм з деструктивною активністю відносно цих ксенобіотиків, і при виділенні такої чистої культури висувається додаткові вимоги: відсутність патогенних властивостей та збереження біохімічної активності за умови відносно високих концентрацій органічних політантів.

Деструктори ПАР зустрічаються частіше серед бактерій – представників родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, але в той же час установлено, що здатність руйнувати ПАР широко варіює у мікроорганізмів, навіть серед представників одного роду [<http://biofile.ru/bio/17011.html>]. Тому пошук нових штамів бактерій, виділених із різних забруднювальних джерел; що володіють підвищеною стійкістю до широкого асортименту забруднюючих речовин, здатністю до деструкції найпоширеніших і найбільш небезпечних циклічних ароматичних ксенобіотиків є одним з перспективних напрямів удосконалення технологій очищення стоків фармацев-

втичного виробництва, медичних стоків, різних промислових відходів та відновлення природних екосистем. Більшість синтетичних ПАР володіють антимікробними властивостями. Крім природної стійкості деяких мікроорганізмів до біоцидних препаратів, мікроорганізми швидко адаптуються до несприятливих факторів, в тому числі і до впливу антимікробних засобів. Цей феномен пояснюється виживанням в умовах контакту з біоцидом найбільш стійких (резистентних) штамів бактеріальної популяції. Внаслідок мутації виживають клітини, що мають змінений ген. Описані випадки розмноження потенційно патогенних мікроорганізмів в розчинах, призначених для дезінфекції, адаптації до терапевтичних доз антибіотиків і полірезистентності до десятків антимікробних засобів.

Мікробіологічних способів очищення води від циклічних ароматичних ксенобіотиків, до яких належать широко розповсюджені водорозчинні солі N-цетилпіридинію, обмежена кількість. Це обумовлено їх високою антимікробною дією по відношенню до грибів, грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів. Галогеніди N-цетилпіридинію відносяться до катіонних ПАР, що володіють підвищеною поверхневою активністю і дезінфікуючою дією; є основою більшості дезінфікуючих засобів: хлоргексидину, диоциду. Диоцид (Diocidum) – дезінфікуючий комбінований засіб на основі суміші N-цетилпіридинію хлористого (або N-цетилпіридинію бромистого) і етанолмеркурілхлориду (активний ртутний антисептик) у співвідношенні (2 : 1). Компоненти диоциду випускаються окремо, розчини готують перед використанням. Поєднання цих двох компонентів надає диоциду добрий миючий і противогрибковий ефект. Застосовують диоцид у вигляді розчину (1 : 5000) для обробки рук хірурга перед операцією, миття рук перед виготовленням лікарських засобів, для холодної стерилізації апаратури (апаратури штучного кровообігу, штучної нирки та ін.), для холодної стерилізації хірургічного інструментарію [<http://enc-dic.com/vet/Diocid-590.html>].

Постійне використання N-цетилпіридинію хлористого (або N-цетилпіридинію бромистого) лише як основи дезінфікуючих засобів призводить до його накопичення у стоках виробництва фармацевтичних препаратів, у стоках медичних закладів тощо.

Потрапляючи у водойми, ПАР активно беруть участь в процесах перерозподілу і трансформації інших забруднюючих речовин, активізуючи їх токсичну дію [Остроумов С. А., 1991]. Відомості про здатність мікроорганізмів розкладати синтетичні ПАР катіонної природи на прикладі “біологічно жорсткого“ N-цетилпіридинію хлористого представлені в роботі [Сопрунова О.Б. и др., 2013]. Чисті культури мікроорганізмів виділяли із нафтошламів і замазучених стічних вод підприємств нафтогазової галузі, стічних вод виробництва скловолокна.

Мікроорганізми із промислових стічних вод виробництва скловолокна виділяли методом Коха з використанням поверхневого і глибинного культивування на живильних твердих середовищах МПА (м'ясо-пептонний агар) і агаризованого середовища М-9 наступного складу, г/л:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 6,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 3,0;  $\text{NaCl}$  – 0,5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1,0; рН 7,0–7,2.

Для виділення специфічної мікробіоти використовували МПА і М-9, в які вводили поліакриламід в кількості 1 г/л. Посіви проводили з використанням методу граничних розведень. Культивування на середовищі МПА проводили при температурі 25 °С протягом тижня; на середовищі М-9 – протягом 3–4 тижнів, при температурі 25 °С. Для вивчення здатності бактеріальних культур до деградації ПАР використовували модельні розчини з концентраціями N-ЦПХ 1, 2, 10 і 20 мг/дм<sup>3</sup>. Титр клітин бактеріальних штамів при внесенні у розчин ПАР складав 10<sup>3</sup>–10<sup>4</sup> КУО/мл. В цілому найбільш ефективними як відносно аніонної ПАР (“біологічно м'якого“ додецилсульфат натрію), так і катіонної ПАР (“біологічно жорсткого“ N-ЦПХ) були штами *Kocuria rosea*, *Kocuria palustris*, *Pseudomonas seleniipraecipitans*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus warneri* А., виділені із стічних вод виробництва скловолокна, у складі яких N-ЦПХ є домінуючим забруднювачем.

Експериментально встановлено, що здатність руйнувати ПАР широко варіює у мікроорганізмів, навіть серед представників одного роду, наприклад, ступінь деструкції N-ЦПХ з концентрацією 20 мг/дм<sup>3</sup> за дії штамів *Staphylococcus warneri* А і *Staphylococcus warneri* Т складає відповідно 94% і 45% (на 5-у добу); а за дії штамів *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* – відповідно 60,7% і 52,3% (на 6-у добу). При

мінімальних концентраціях N-ЦПХ (1 і 2 мг/дм<sup>3</sup>) деградація усіма досліджуваними ними штамми бактерій проходила інтенсивно (72–100%) протягом 5–6 діб; при концентрації 20 мг/дм<sup>3</sup> – протягом 5-ти діб за дії штамів, виділених із стічних вод виробництва скловолокна, деградація катіонної ПАР складає 91–96%; за дії штамів, виділених із нафтошламів і замазучених стічних вод, ці показники нижче – 52–85% на 6-у добу.

При досягненні високих результатів по деструкції “біологічно жорсткого” N-цетилпіридинію хлористого до недоліків способу слід віднести наступне: довготривалість процесу культивування (найбільш біохімічно-активних штамів-деструкторів (ізолюваних із стічних вод виробництва скловолокна) – від тижня до місяця при малому титрі клітин бактеріальних штамів (10<sup>3</sup>–10<sup>4</sup> КУО/мл), що вводили у розчин ПАР; відсутність відомостей про резистентність виділених штамів-деструкторів N-ЦПХ щодо високих концентрації інших циклічних ароматичних ксенобіотиків, до яких належить і високотоксичний фенол (фенол, як і N-ЦПХ зустрічається у стоках фармвиробництва, медичних стоках тощо), тобто відсутні відомості про здатність штамів-деструкторів N-ЦПХ окиснювати фенол; у присутності полісахаридів (агар-агар, крохмалю, целюлози) і білкових речовин (казеїну, сироватки крові, пептону, желатину, альбуміну) знижується антимікробна активність ряду катіонних ПАР (причому бактеріостатична дія на грамнегативні бактерії знижується в більшому ступені, ніж на грампозитивні, в той час як бактерицидна дія зменшується однаково); не проведена оцінка патогенності найбільш активних штамів-деструкторів N-ЦПХ *in vitro* (на моделі перещеплених ліній культур клітин людини – Her2 і RD та тварин – L20B) та *in vivo* (на білих лабораторних мишах), що є необхідним для широкого їх використання в біотехнології очищення води від циклічних ароматичних ксенобіотиків.

Авторами розроблено метод очищення води від ароматичних ксенобіотиків, який полягає в тому, що води, у складі яких присутні ароматичні ксенобіотики – N-цетилпіридиній бромистий або фенол, очищують біореагентом, який культивують протягом доби за температури 30 °С на МПА, бактеріальні клітини суспендують у мінеральне середовище М-9, і відрізняється тим, що як біореагент

використовують непатогенний штам мікроорганізму *Aeromonas ichthiosmia* ONU-552, який у кількості  $5,5 \times 10^4 - 5,5 \times 10^5$  КУО/мл вносять у водні розчини, що містять N-цетилпіридиній бромистий (до 20 мг/дм<sup>3</sup>) або фенол (до 300 мг/дм<sup>3</sup>), і витримують до 10 діб. Спосіб є екологічно безпечним і не викликає вторинного забруднення [Патент України на винахід. Номер заявки № а201804338 від 20.04.2018р.; Патент України на винахід. Номер заявки № а201804335 від 20.04.2018р.].

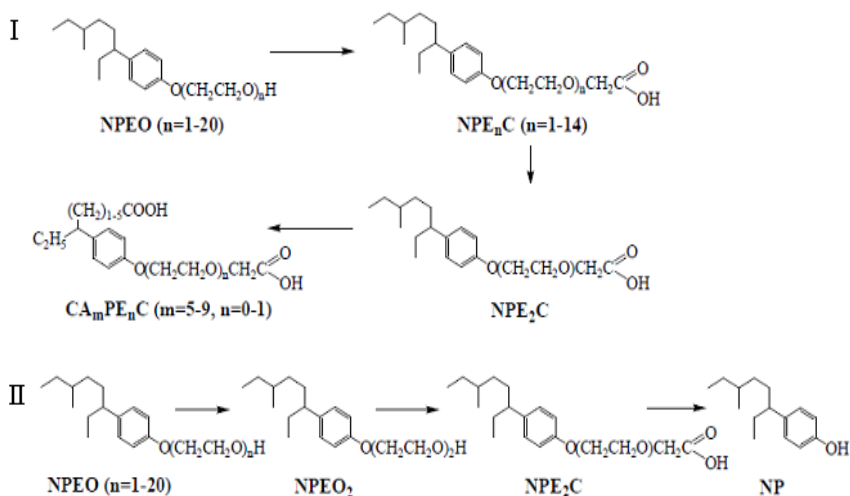
#### 4.2. Механізм біодеструкції ароматичних оксиетильованих алкілфенолів

Здатність поверхнево-активних речовин до біорозкладання в першу чергу визначається будовою їх молекул. Наявні на сьогоднішній день експериментальні дані свідчать про те, що ароматичні неіоногенні ПАВ, такі як оксиетильовані алкілфеноли розкладаються з великими труднощами [Шенфельдт Н., 1982].

Біорозкладання оксиетильованих алкілфенолів протікає за досить складним механізмом. Раніше вважалось, що на початковій стадії аеробного біорозкладання оксиетильованих алкілфенолів відбувається скорочення оксиетильного ланцюга з утворенням моно- та діетоксилатів алкілфенолів  $NP_1EO$  та  $NP_2EO$  (рис. 25, I), що перетворюються в результаті подальшого окиснення в алкілфеноксидоцтову  $NPE_1C$  і алкілфеноксидоцтову кислоту  $NPE_2C$  [Analysis and fate of surfactants in the aquatic environment, 2003].

Результати останніх досліджень показують, що процес починається з  $\omega$ -окиснення оксиетильного ланцюга з утворенням довголанцюгових алкілфеноксидоцтових кислот, основним продуктом деструкції яких є алкілфеноксидоцтова кислота.

На останньому етапі біорозкладання відбувається окиснення алкільного радикала. В протилежність представленій схемі, при анаеробному біорозкладанні, що протікає на очисних спорудах, а також під дією мікроорганізмів в озерних і річкових донних відкладеннях, скорочення оксиетильного ланцюга призводить до утворення алкілфенолів в якості кінцевих продуктів (рис. 24, II).



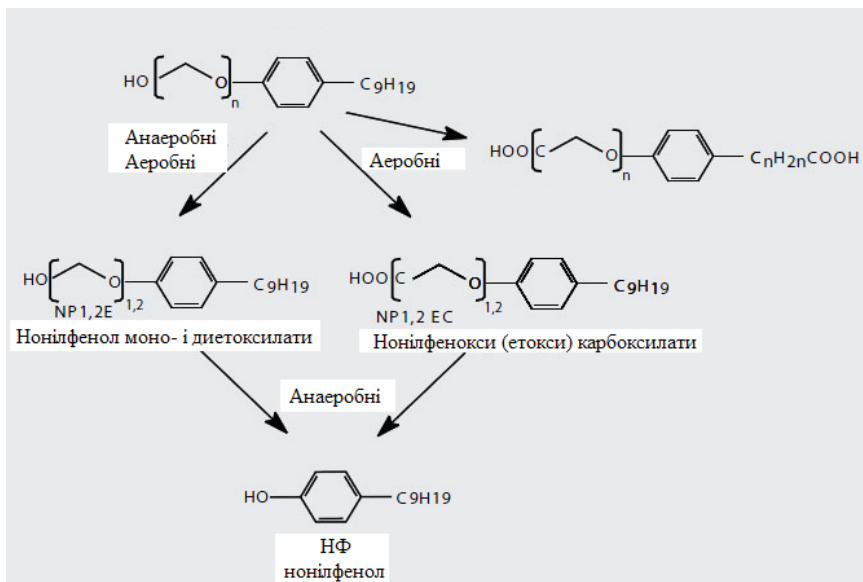
**Рис. 25.** Схема аеробного (I) і анаеробного (II) біорозкладання оксиетильованих алкілфенолів [Тухова А.А., 2015]

Методом рідинної хроматографії, мас-спектрометрією такі метаболіти, як нонілфенол, моно-, діетоксилат нонілфенол і дикарбоксилат етоксилати алкілфенолів були виявлені в поверхневому шарі ґрунту і донних відкладеннях [Jonkers N. et al., 2005; Lara-Martín P.A. et al., 2006; Lara-Martín P.A. et al., 2012; Ding W.-H., Tzing S.-H., 1998], річкових і морських водах [He F., Obara A. et al., 2012], побутових і промислових стічних водах [González M.M., Martín J. et al., 2012], а також у питній воді [Andreu V. et al., 2007].

Здатність оксиетильованих алкілфенолів до біорозкладання залежить від ступеня оксиетильовання, збільшення якої знижує глибину біохімічного розкладання неіоногенних ПАР. Схема деградації нонілфенолетоксилатів в наколишньому середовищі представлена на рис. 26.

Відомо, що біодеградація алкілфенолів в об'єктах навколишнього середовища відбувається за участю мікроорганізмів різних таксономічних груп [Руссу А.Д., 2017].

Більшість відомих мікроорганізмів-деструкторів алкілфенолів – це бактерії родини Sphingomonadaceae [Corvini P. F. X.,



**Рис. 26. Схема деградації нонілфенолетоксилатів в наколишньому середовищі**  
 [Jasperien P.A. de Weert J.P.A., 2009]

Schäffer A., Schlosser D., 2006]. Так само виявлена здатність до деградації НФ бактеріальними культурами роду *Pseudomonas* і *Sphingomonas* і їх внутрішньоклітинними ферментами - монооксигеназами [De Vries et al., 2001; Soares et al., 2008].

В значно меншому ступені досліджена можливість утилізації алкілфенолів грибами [Kuzikova I. et al., 2017]. Встановлено також, що біологічну деструкцію НФ здатні здійснювати міцеліальні гриби, що володіють високою стійкістю до нонілфенолу [Krupinski M. et al., 2013.; Kuzikova I. et al., 2016].

Багато ціанобактерій, зелені і діатомові мікроводорості виявляють здатність до біоаккумуляції і/або біодеградації ноніл- і октилфенолів, причому ступінь як біоаккумуляції, так і біодеградації залежить від штаму мікроорганізму, початкової концентрації алкілфенолів тощо [Liu Y. et al., 2013; Gao Q.T., Tam N.F.Y., 2011; Medvedeva N. et al., 2017].

## РОЗДІЛ 5

### БІОТЕХНОЛОГІЯ ОЧИЩЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ВОДНИХ РОЗЧИНІВ І СТИЧНИХ ВОД ВІД ФЕНОЛУ ТА ІНШИХ ЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК

Пошук нових, економічно більш ефективних і екологічно чистих методів очищення природних і СВ, що дозволяють повністю руйнувати токсичні фенольні та інші циклічні сполуки або переводити їх в нешкідливі речовини, відноситься до найбільш актуальних напрямків в екології та сучасної технології водоочищення. Перспективними в цьому плані являються методи біологічної дефенолізації багатокомпонентних СВ з використанням рослин, біохімічно активних мікроорганізмів і т.д. [05.23-19И.405., 2005; Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018].

Існують відомості про використання для очищення СВ від фенолу та інших циклічних сполук водоростей [Фатихова Н.И. и др., 2015]. В результаті дослідження встановлено, що водорості роду *Cladophora* здатні сорбувати із води фенол і його сполуки, що свідчить про перспективність їх використання для локального очищення фенолвмісних стічних вод нафтохімічного комплексу.

Показана ефективність використання фітомаси наяди дрібнозубчастої для доочищення фенолвмісних стічних вод хіміко-фармацевтичного виробництва [Быкова Г.С., Шаталаев И.Ф., 2012; Быкова Г.С. и др., 2014]. Двоатомні феноли – пірокатехін, резорцин, гідрохінон адсорбуються фітомасою наяди дрібнозубчастої швидше, ніж одноатомні – фенол і о-крезол (кислотні властивості крезолів через наявність метильної групи виражені слабше, ніж у фенолу).

Інтенсивність вилучення нафтолів фітомасою наяди трохи нижче, ніж двоатомних фенолів (арендіолів) [Быкова Г.С. и др., 2014].

Значний інтерес представляють альтернативні технології вилучення фенолів із використанням окисно-відновних ферментів завдяки їх селективності, високому ступеню очищення, утворенню малотоксичних продуктів, можливості застосування в широкому інтервалі рН, температури і концентрації полютантів [Шестеренко Ю.А. и др., 2012].

Мідьвмісний фермент тирозинази каталізує гідроксилювання монофенольних субстратів до о-дифенолів і окиснення о-дифенольних полютантів до о-хінонів з подальшим утворенням малотоксичних олігомерних продуктів. Найбільш активно вивчаються тирозинази грибів *Agaricus bisporus*.

Розроблено спосіб співокиснення аніліну і ФС у водних розчинах з використанням тирозинази грибів *Agaricus bisporus* з подальшим елімінуванням продуктів біоконверсії алюмокалієвими квасцями [Севастьянов О.В., 2012; Шестеренко Ю.А., 2010].

Один із основних недоліків застосування тирозинази – висока вартість. Для стабілізації і багаторазового використання тирозинази перспективним є закріплення її на полімерних носіях [Патент України на винахід №40058, 2009].

Окиснення хлорфенолів з використанням окисно-відновного ферменту пероксидази хрону представлено в роботі [Давиденко Т.И., 2004]. Для вилучення ФС із поверхневих вод і стоків використовували рослинну тканину звичайного хрону (*Raphanus sativus*) з незначною попередньою обробкою [Nasello, Soledad; Hughes, Enrique; Montserrat, Javier; Zalts, Anita, 2016].

Пероксидазу хрону, іммобілізовану в гель полісахаридів з морських водоростей (карагінан), використовували для очищення СВ від фенолу. При цьому вводили в фенолвмісний розчин гранули карагінану з чорноморської водорості *Phyllophora nervosa* з іммобілізованої в них пероксидазою (0,2–2,5 од/мг) з додаванням  $H_2O_2$ . Суміш витримували при перемішуванні за кімнатної температури і рН 6,0–7,0, після чого гранули з полімерним продуктом окиснення, який концентрується в них, відокремлювали фільтруванням.

Недоліком цього способу є те, що пероксидаза хрону каталізує окиснення фенолу за присутності  $H_2O_2$ , який може стати додатковим забруднювачем навколишнього середовища. Розроблений біокаталізатор використовується протягом 5 циклів з 50% ступенем трансформації фенолу (0,25 ммоль/дм<sup>3</sup>) [Патент України №29455, 2008].

Показана можливість використання ціанобактерій *Synechocystis salina* і *Porormidium foveolarum* для очищення побутових стічних вод від таких стійких органічних забруднювачів,

від фенолу зокрема [Cepoi L., Donțu N., Șalaru V., 2016].

Встановлена сорбційна активність клітинних стінок дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* по відношенню до фенолу. Основним механізмом адсорбції фенолу є фізична сорбція, а не комплексоутворення. Вивчено адсорбційні здатності клітинних стінок дріжджів по відношенню до фенолу в залежності від рН, початкової концентрації фенолу, витрати сорбенту і часу активації.

Показано, що ефективність сорбції збільшується в протонуваних розчинах, рН <3. Розрахована максимальна ємність складає 18,9 мг фенолу на 1 г сухого сорбенту, що свідчить про можливість використання клітинних стінок дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* в якості нового адсорбованого матеріалу для вилучення фенолу з водних розчинів [Аронбаев С.Д. и др., 2014].

## 5.1. Деструкція фенолу та його похідних за дії мікроорганізмів

Для очищення стічних вод від фенолу, його похідних все частіше використовують мікробіологічні методи [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018; Баландина А.Г. и др., 2015; Быкова Г.С. и др., 2014]. Мікроорганізми, завдяки своїй унікальній адаптації, яка досягається вертикальним і горизонтальним перенесенням генів, відіграють ключову роль в збереженні навколишнього середовища.

Властивість мікроорганізмів використовувати поліютанті різної природи, в тому числі токсичні фенольні й циклічні ароматичні сполуки, як єдине джерело карбону та енергії робить їх незамінними для розвитку екологічних біотехнологій.

Актуальним завданням біотехнологів залишається пошук біохімічно-активних штамів мікроорганізмів, які не є патогенними для людини, і мають широкий спектр біотехнологічної дії для створення на їх основі нових за складом біопрепаратів [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].

Широким спектром біодеструктивної активної по відношенню до органічних ксенобіотиків – фенолу та інших циклічних ароматичних сполук, характеризуються бактерії різних таксономічних груп [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018; Chakraborty B., 2016].

Виділено деструктори фенолу, 2,4-дихлорфенолу, пара-нітрофенолу (ПНФ) та інших циклічних сполук, що класифіковані як представники родів *Rhodococcus*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Agromyces*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Brenneria*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Gluconobacter*, *Pantoea*, *Raoultella*, *Serratia marcescens*, *Agromyces*, *Flavobacterium*, *Acetobacter*, *Penicillium chrysogenum*, *Aeromonas*, що в детально розглянуті в монографії [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018; Chakraborty B., 2016].

У літературі є дані про повну мінералізацію ФС до простих сполук в процесі їх біодеградації патогенними мікроорганізмами – *Aspergillus niger* [Supriya Mrs. Ch., 2014], *Pseudomonas aeruginosa* [Петров А.А., Салаватова Р.М., 2011.; Jayachandran V.P., Kunhi A.A.M., 2009], індійським штамом *Staphylococcus aureus* [Butani Naresh and other, 2012], галофільними грибами *Aspergillus*, *Pencillium*, *Fusarium*, ізольованими з відкладень Суецької затоки і Червоного моря [Aida M. Farag and other, 2014].

Встановлено, що за присутності іонів важких металів (хром, кадмій, цинк) в концентрації 20 мг/л незначно знижувалася ефективність деструкції фенолу, в той час як більш низькі концентрації іонів свинцю і ртуті приводили до вираженого зниження швидкості біодеградації фенолу [Aida M. Farag and other, 2014].

Існують різні фактори, які впливають на мікробну деградацію фенолу, що визначається запобіганням або активацією росту мікробів, або впливом на експресію генів. Основним фактором, що впливає на процес біодеструкції фенолу та інших ксенобіотичних сполук, є хімічна структура і токсичність сполук.

Структурні параметри, зазвичай, включають число, тип і положення замісників і ступінь розгалуження. Чим більше число замісників в структурі, тим більш токсичніша, малопроникнена і менш здатна до біорозкладання сполука. Токсичність будь-яких сполук може запобігти або уповільнити метаболічну реакцію. Моно-, ди-, три- і пентахлорфеноли є більш токсичнішими за незаміщений фенол. Навпаки, орто- і паразаміщені феноли мають більше здатні до розкладання порівняно із метазаміщеними фенолами. Мікробне зростання інгібується при значеннях рН менше 3 або більше 9 [Shailu Dalal et al., 2014].

Механізми біодеградації високотоксичних ОС аеробними і анаеробними мікроорганізмами викладені в роботі [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].

Аероби окиснюють органічні забруднювачі за допомогою окисно- відновних ферментів; анаероби викликають деструкцію ксенобіотиків за механізмом, де термінальним акцептором електронів слугує не кисень, а нітрат, сульфат і діоксид карбону.

Мікроорганізми містять велику кількість ферментів; субстрати, на які вони діють, підлягають політрансформації. Через серію реакцій, що каталізуються ферментами підготовчого метаболізму, ксенобіотики включаються в основний метаболізм мікробної клітини, де частина карбону, що міститься в молекулах сполук, витрачається мікроорганізмами в якості єдиного джерела енергії, йде на синтез біополімерів бактеріальної клітини, а частина окислюється до вуглекислого газу [Сингірцев І.Н., 1995].

Ферментами першої фази аеробної біодеградації ксенобіотиків – фенольних та інших циклічних ароматичних сполук, є монооксигенази (залежні від цитохрому Р-450) і діоксигенази – 1,2 діоксигеназа і 2,3 діоксигеназа.

Бактеріальні діоксигенази – оксидоредуктази, що каталізують впровадження 2 атомів кисню в молекулу субстрату з молекулярним киснем в якості донора кисню, здатні трансформувати бензол, толуол до відповідних цис-дигідродіолів.

Атоми кисню впроваджуються відповідно до зазначених положень ароматичного кільця. Ці ферменти були виділені із бактерій роду *Pseudomonas* і *Alcaligenes* [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].

З бактерій *Rhodococcus opacus* 1G були виділені ферменти, здатні біотрансформувати фенол – пірокатехін-1,2-діоксигеназа і муконатциклоізомераза. Показано, що одна з діоксигеназ є вкрай нестабільною.

Другий фермент за субстратною специфічністю відноситься до пірокатехін-1,2-діоксигенази звичайного орто-шляху. Інгібіторами конкурентного типу пірокатехін-1,2-діоксигенази були хлорпірокатехіни і хлорфеноли, інгібуючий ефект інших ароматичних сполук був слабкішим [Шумкова Е.С. и др., 2009].

Бактерії *Rhodococcus opacus* 1G здатні рости у рідкому се-

редовищі з концентрацією ФС до 0,75 г/л [Шумкова Е.С. и др., 2009]. Іммобілізація бактерій *R. oracus* 1G сприяє повній утилізації фенолу в кількості 1,0 і 1,5 г/л через 24 і 48 годин, відповідно.

Ферменти перетворюють високотоксичні ОС в метаболіти, які згодом трансформуються у речовини, що використовуються мікроорганізмами для отримання енергії і синтезу клітинних елементів [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].

Мікроби набули характерні механізми деградації фенолу. З появленням сучасних технологій механізми деградації фенолу були детально вивчені як по ферментативним, так і по генетичним параметрам [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017]. Механізм стійкості до фенолу залежно від використання молекулярного кисню був класифікований на два типи: анаеробний і аеробний.

## **5.2. Механізм анаеробної та аеробної біодеградації фенолу мікроорганізмами**

Анаеробна деградація фенолу. Анаеробна деградація фенолу була вивчена у багатьох бактеріальних штамів, таких як денітрифікуючі штами *Pseudomonas* K172, *Clostridium* sp. і *Thauera aromatica*. Lack and Fuches [Lack A., Fuches G., 1994] припустили, що анаеробний розпад починається з фосфорилування фенолу фосфатним фрагментом від неідентифікованого фосфорильного донора.

Ця реакція каталізується фенілфосфатиназою з утворенням першого проміжного продукту, тобто фенілфосфату, який послідовно переходить в 4-гідроксибензоат за допомогою ферменту фенілфосфаткарбоксілази.

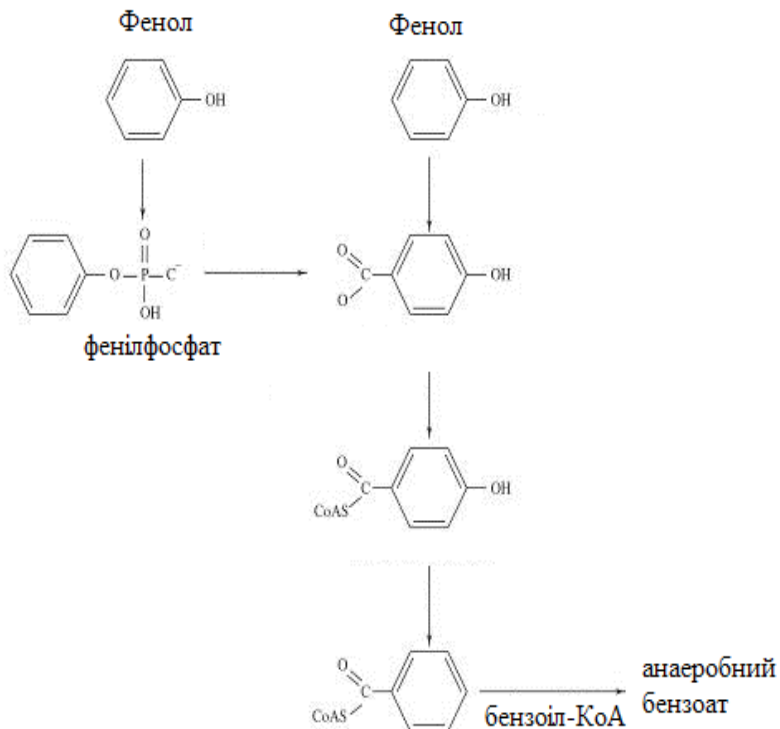
Цей фермент чутливий до кисню і радикалів. На відміну від інших карбоксілаз, він не залежить від біотину або діаміну / тіаміну і використовує діоксид карбону в якості субстрату, а метал в якості співкаталізатору.

4-гідроксибензоат розщеплюється з утворенням 4-гідроксибензоїл-КоА через проміжний бензоїл-коензим А при каталізі 4-гідроксибензоїл-СоА-лігази. 4-гідроксибензоїл СоА стає дегідроксильованим з утворенням бензоїл-КоА, який виявляється в

якості проміжної сполуки в багатьох мікроорганізмах.

4-гідроксибензоат декарбоксилаза каталізує перетворення фенолу в 4-гідроксибензоат за допомогою анаеробного декарбоксилювання в клостридій.

Анаеробний шлях біодеградації фенолу денітрифікуючою бактерією *Thauera aromatica*, представлений на рис. 27.



**Рис. 27. Шлях анаеробної біодеградації фенолу денітрифікуючою бактерією *Thauera aromatica* [Shailu Dalal et al., 2014]**

Шлях бензоіл-КоА виявляється найбільш важливим – через цей шлях метаболізується широкий спектр фенолів [Shailu Dalal et al., 2014].

Аеробна деградація фенолу. В аеробному шляху розкладання фенолу спочатку гідрокслюється в орто-положенні фенолгідроксилазою з утворенням катехолу [Shailu Dalal et al., 2014.; Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].

Фенольні гідроксилази спочатку очищали з дріжджів *Trichosporon cutaneum*, – з тих пір цей фермент був виділений з декількох видів бактерій, таких як *Acinetobacter*, *Pseudomonas picketti*, *Bacillus stearothermophilus* BR219.

Фенолгідроксилаза є багатокомпонентним ферментом в *Acinetobacter radioresistens* і *Pseudomonas CF600*.

Катехол є звичайною проміжною сполукою в каталітичному шляху багатьох ароматичних сполук, який потім підлягає трансформації за орто- або мета-каталітичним шляхом залежно від розщеплення кільця катехолу в орто- або мета-положенні.

Шлях орто-розщеплення. За орто-каталітичним шляхом катехол розщеплюється в орто-положенні катехол-1,2-оксигеназою (C120) і, нарешті, перетворюється в сукцинат і ацетил-КоА, як показано на рис. 28.

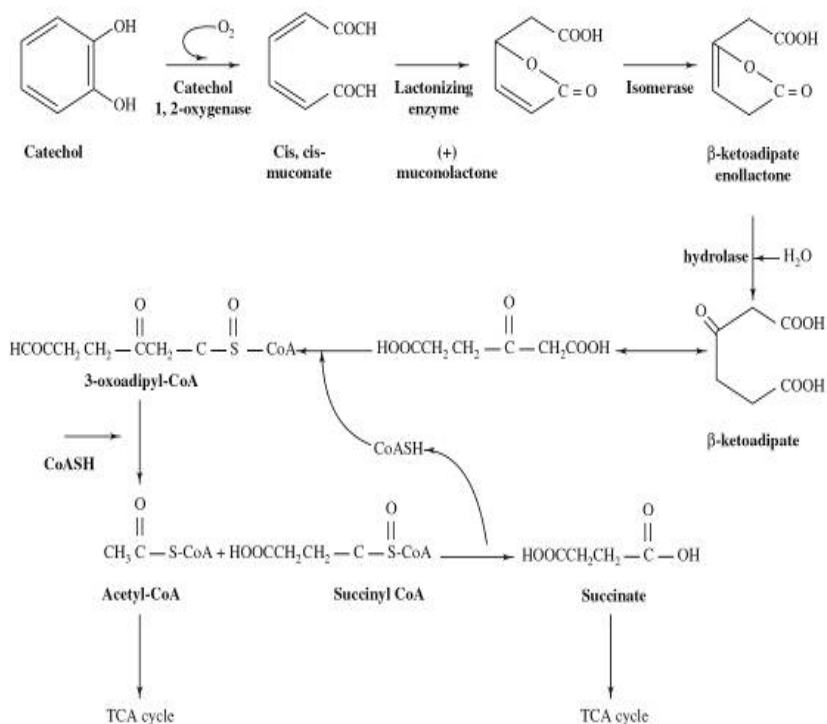
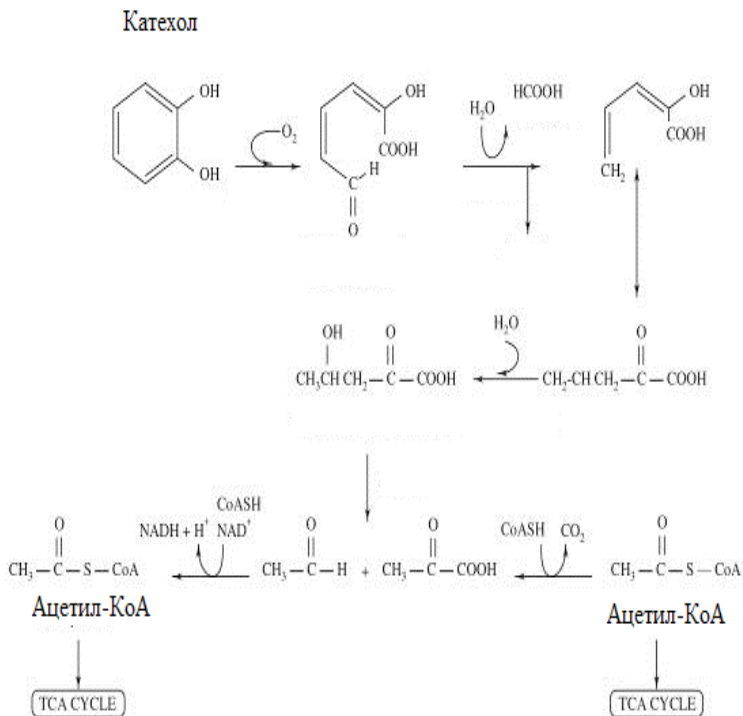


Рис. 28. Схема орто-розщеплення катехолу  
[Shailu Dalal et al., 2014]

Шлях мета-розщеплення. За мета-каталітичним шляхом катехол розщеплюється в мета-положенні, що каталізує ферментом катехол 2, 3-оксигенази, і призводить до утворення ацетальдегіду і пірувату, як показано на рис. 29.



**Рис. 29.** Схема мета-розщеплення катехолу

[Shailu Dalal et al., 2014]

Однак в природі існує багато мікроорганізмів, які здатні трансформувати фенол за обома шляхами. Індукція орто- або мета-шляху залежить від природи первинного ароматичного субстрату.

Коли фенол використовується як субстрат, він індукує зростання катехол 1,2-оксигенази, мабуть, після того, як бактеріальні клітини вирощуються за рахунок первинного субстрату, такого як крезолі, саліцилат, бензосульфат і т. п., і індукується мета-шлях [Shailu Dalal et al., 2014].

## РОЗДІЛ 6 БІОЛОГІЧНЕ ОЧИЩЕННЯ ВОДИ ВІД НАФТОВИХ ЗАБРУДНЕНЬ

Біологічне очищення навколишнього середовища від вуглеводнів нафти і нафтопродуктів засноване на застосуванні мікроорганізмів, здатних використовувати ці органічні сполуки як єдине джерело карбону.

Особлива біохімічна організація мікробної клітини забезпечила їй поліфункціональну ензиматичну активність, завдяки їй мікроорганізми здатні використовувати вуглеводні нафти в процесі енергетичного і конструктивного метаболізму і руйнувати їх, знижувати вміст нафти до фонових значень (значення фонових концентрацій в різних регіонах змінюються в широких межах) при низьких експлуатаційних витратах і простоті рішення [Тумергазіна І.Ф., Переходова Л.С., 2012].

Метод природного розкладання – технологія, що ґрунтується на самовідновлювальній здатності навколишнього середовища, зазвичай за допомогою активізації аборигенної мікробіоти.

Головне завдання ремедіатора правильно оцінити можливість використання цього методу на даній території і простежити поширення забруднення та очищення до завершення процесу.

Недоліки: в цілях гарантії відсутності ризику для навколишнього природного середовища необхідний тривалий моніторинг забрудненої території.

Природні процеси розкладання забруднюючих речовин повністю не дозволяють очистити територію до необхідного рівня.

Даний метод може бути достатньо довгостроковим. Переваги: відносно дешевий метод, ефективність якого можна підвищити за рахунок використання асоціативних культур-деструкторів.

Запропоновано штам *Mycobacterium species* (депонований в центральній колекції мікроорганізмів Держконцерну «Біопрепарат», колекційний ЦКМ У 65-Б), виділений з проби морської води Білого моря.

Штам придатний для очищення прісної і морської води (до 7,5% солоності) від забруднень нафтою і нафтопродуктами в широкому діапазоні температур (10–26 °С). Технічний результат

[Патент на изобретение RU 2129603] – розширення сфери застосування та ефективності очищення від нафтозабруднень.

Високі результати по очищенню стічних вод, ґрунту одержано за участю бактерій *Rhodotorula* sp. [Патент на изобретение RU 2526496, 2013].

З проб води Північного Каспію в районі розвідки нафтових родовищ виділено штам *Phyllobacterium myrsinacearum*, що володіє вуглеводень-окиснюючою здатністю.

Деструктивна активність штаму щодо вуглеводнів нафти і нафтопродуктів становить 54,5–96,0%. Штам призначений для використання в екологічній біотехнології, мікробіології при розробці способів біологічного очищення водних екосистем від забруднення нафтою і нафтопродуктами [Куликова И.Ю., Дзержинская И.С., 2007].

Штам *Microbacterium species* депонований під реєстраційним номером ВКМ Ас-2615D, застосовуються для очищення солоноватоводних і морських водойм. Винахід забезпечує посилення руйнування в нафті нафтонових фракцій, гетероциклічних сполук і смол, а також поліароматичних сполук, бензо (а) пірену бензо (а) антрацену [Патент на изобретение RU 2553335, 2013].

Відомо, що штам *Rhodococcus erythropolis* застосовують для очищення прісноводних, солоноватоводних і морських об'єктів і донних відкладень. Забезпечується висока деструкція нафти у водних об'єктах при температурі від +2 до +25 °С і солоності до 2,7%. [Осадчий В.Ф., Яременко Л.В., 2009].

Експериментально підтверджено ефективність використання асоціації штамів бактерій *Rhodococcus* sp. ВКМ Ас-2532Д, *Rhodococcus* sp. ВКМ Ас-2533Д, *Pseudomonas* sp. ВКМ В-2387Д і *Pseudomonas putida* ВКМ В-2380Д, які продукують біоемulgатори для біодеградації нафти і нафтопродуктів в ґрунтах, прісній і морській воді. Використання асоціації штамів дозволяє здійснювати деградацію нафти і нафтопродуктів при підвищеній концентрації солі як при нормальній, так і при низькій температурі [Патент на изобретение RU 2312891, 2006].

Цілеспрямована робота по селекції штамів мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів нафти дозволила розробити ряд біопрепаратів на їх основі. В Україні найбільш відомими є препа-

рати: «Десна» – (розробка Українського дослідного центру екології нафти і газу, м Київ), Консорціум – (мікроорганізмів Інститут високих технологій, м. Київ), «Деворойл», що виготовляється за російською ліцензією ВАТ «Аермент», (м Ладизин) і недавно рекомендований Мінекології «Simbinal» (розробка Інституту ботаніки НАН України).

У Російській Федерації широко застосовується «Путидойл», «Олеоворін», «Деворойл», «Валентіс», «Нафтокс», «Мікроміцетів», в Білорусі – «Родобелі», «Родобелі-Т» [*Патент RU на изобретение №2174496, 2001; Патент RU на изобретение №2312891, 2007*].

Ці препарати являють собою ліофілізовану культуру або пасту, на основі яких готуються робочі розчини для обробки нафтового забруднення. Однак застосування таких препаратів не раціонально в умовах акваторій портів і відкритого моря в зв'язку з неможливістю створення необхідних ефективних концентрацій бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти через великі об'єми води, змиву культури з нафтового забруднення, при атмосферних опадах.

### **6.1. Біотехнологічне очищення води та ґрунту від вуглеводнів нафти з використанням біопрепаратів**

Біотехнологічний метод з використанням біопрепарату «Деворойл» для боротьби з нафтовим забрудненням. Сутність методу: у ємність, обладнану мішалкою або пристроєм для барботажа повітря, вносять 1 кг біопрепарату, мінеральні добрива (250 г діаміамофоса і 3 кг аміачної селітри), додають 1000 л теплої технічної води (+15 – +30 °С) і перемішують до повного розчинення всіх компонентів. Водний розчин біопрепарату наносять на нафтозабруднену морську або ґрунтову поверхню (з розрахунку 10 л розчину/м<sup>2</sup> поверхні, що очищується).

Нанесення здійснюють шляхом розпилювання будь-якими призначеними для цього агрегатами. Переваги: відносна дешевизна, можливість швидкої локалізації аварійного розливу забруднюючих речовин нафтового походження. Запропоновану технологію можна успішно застосовувати в широких діапазонах рН

середовища (від 2 до 9), а також в умовах різких коливань температур.

Біопрепарат «Деворойл» активний в діапазоні температур від +5 до +37 °С на поверхні нафтової плівки і в товщі нафтового шару, адаптований до середовищ солоністю до 150 г/л і є непатогеним.

Продукти біодеградації нафти і нафтопродуктів нейтральні і не справляють негативного впливу на екосистеми. Поставляється у вигляді порошку або гранул розфасованих в крафтмішки по 15 кг, витрачається по 5–8 кг на 1 т майданного розливу нафти (відповідає 1 га попередньо механічно зачищеної ділянки забрудненого ґрунту або водної поверхні).

Дія препарату зростає при застосуванні разом з ним мінеральних добрив, що містять азот і фосфор (на 1 кг препарату потрібно 2–3 кг добрив). Обробка проводиться методом зрошування із застосуванням будь-яких спецмашин і агрегатів. Вартість препарату 49 \$ США/кг. Переваги: біопрепарат «Деворойл» є універсальним для всіх видів нафти і нафтопродуктів [*Справочник. Технологии восстановления почв, загрязненных нефтью нефтепродуктами, 2001*].

Недоліки: біопрепарат не є ефективним при температурах нижче +5 °С (Хоча слід зазначити, що при негативних температурах мікроорганізми, що входять до складу препарату, не гинуть, а відновлюють свою активність при підвищенні температури); тривалість процесу очищення; метод найбільш ефективний при свіжих розливах нафти та нафтопродуктів.

Біоремедіація води/ґрунту за допомогою комплексної біотехнології «Сойлекс». Комплексна біотехнологія «Сойлекс» включає послідовне використання ряду біопрепаратів. На першому етапі використовується біопрепарат «Сойлекс» на основі активної асоціації мікроорганізмів-деструкторів нафти і нафтопродуктів в поєднанні з внесенням мінеральних солей і мікроелементів.

Біопрепарат є високоефективним відносно широкого діапазону фракцій нафти, в тому числі і важких фракцій, зберігає високу деструктивну активність у широкому діапазоні температур і рН (4,5–8,5). Переваги: дозволяє знизити в максимально короткі

терміни рівень нафтового забруднення шляхом підбору специфічної асоціації штамів-деструкторів, оптимальної для даного типу забруднення.

Біопрепарат дозволяє не тільки очищати навколишнє середовища, але і відновлювати зруйновані екологічні зв'язки в біоценозі, відновлювати родючість ґрунтів [*Справочник. Технологии восстановления почв, загрязненных нефтью нефтепродуктами, 2001*].

Біоремедіація води/ґрунту за допомогою препарату «Олеоворин»: використовують біопрепарат «Олеоворин» в сукупності зі схемою внесення біогенних добавок і відповідними заходами, що забезпечують оптимальне протікання процесу біокомпостування та біодеградації нафтових забруднень.

В результаті реалізації технології нафтове забруднення перетворюється в кінцевому підсумку на вуглекислий газ, воду і гумус. Препарат працює в діапазоні температур від +3 до +45 °С і значень рН середовища від 4,0 до 9,5. Переваги: високі швидкості утилізації нафтових забруднень (до 20000 мг/кг протягом 1 місяця), які дозволяють знизити витрати і зменшити час обробки [*Справочник. Технологии восстановления почв, загрязненных нефтью нефтепродуктами, 2001*].

Стимулювання аборигенної мікробіоти прибережної частини моря, забрудненої нафтою. У прибережну частину моря, забруднену нафтою, вносяться різні біогенні елементи. Переваги: активізується деградуюча здатність мікробіоти, що природно міститься в забрудненій прибережній частині моря, підвищується вміст рухомих форм азоту, фосфору і калію, які покращують біологічні властивості очищувальної зони. Дозволяє замінювати промислові біопрепарати, однак є малоефективним при високих рівнях нафтового забруднення.

Відновлення води/ґрунту за допомогою біопрепарату «Микроміцет» (за технологією *in situ*). Препарат може бути використаний для очистки воли/ґрунту від нафти і нафтопродуктів шляхом розпилення на забруднену поверхню.

В результаті розкладання нафти і нафтопродуктів на поверхні утворюється екологічно безпечна біомаса. Можливе також використання препарату для очищення дощових, талих і поливо-

мийних вод у відстійниках очисних споруд і в деяких технологічних процесах видобутку нафти. Препарат «Микромицет» являє собою штам мікроскопічного ґрунтового гриба з включенням мінеральних мікродобавок (азот, фосфор, калій, магній).

Штам стійкий до техногенних забруднень, має потужну ферментативну систему і використовує нафту і нафтопродукти в ґрунтах в якості єдиного джерела живлення. Препарат являє собою суміш спір специфічного мікроскопічного гриба з мінеральними добавками.

Штам утилізує ароматичні і циклічні структури в різних типах нафти. Переваги: мікроскопічні гриби препарату «Микромицет», внесеного у ґрунт, повністю розкладають всі види нафти і нафтопродуктів, включаючи мазут, та інші речовини, що містять вуглеводні (в тому числі ті, що важко руйнуються) до утворення корисної для ґрунту та екологічно безпечної речовини.

Препарат може застосовуватися для очищення фенолів, крезолів, піренів та інших речовин, що мають у своїй структурі бензольні кільця.

Біопрепарат «Дестройл» для ліквідації нафтових забруднень ґрунту (за технологією *in situ*). Біопрепарат отриманий шляхом мікробіологічного синтезу на основі культури бактерій *Acinetobacter sp.*, під дією якої вуглеводні нафти і нафтопродуктів окиснюються до екологічно нейтральних сполук.

Застосування «Дестройл» дозволяє прискорити до двох-трьох місяців процес природної регенерації забрудненої території. За сприятливих погодних умов біопрепарат утилізує через 20–30 днів нафту і нафтопродукти на 80-90%. Витрата біопрепарату становить 3.0–15.0 кг/га при обробці ґрунтової поверхні [Справочник. Технологии восстановления почв, загрязненных нефтью нефтепродуктами, 2001].

1. Оптимальні умови для проявлення нафтоокиснювальної дії: температура – 24±Обстеження об'єкта очищення. Картографування і фотографування. Відбір проб, уточнення площі та об'єму забруднення. Аналіз ґрунту на вміст нафтопродуктів. Створення проекту рекультивації.

2. Установка скімерного обладнання. Установка бонів. Пуско-налагоджувальні роботи. Збір нафти (нафтопродуктів) у ко-

лктор (транспортування до місця утилізації). На даному етапі робіт використовується спеціальне нафтозбірне обладнання закордонного та вітчизняного виробництва.

3. Після збору нафти проводять подальше відновлення об'єктів до рівня, який повинен бути досягнутий за погодженням з природоохоронними органами на місцях за допомогою агротехнічних і біологічних заходів із застосуванням (або без застосування) сорбентів та/або біопрепаратів на основі мікроорганізмів-деструкторів нафти. Для проведення агротехнічних заходів використовуються спеціально пристосовані культиватори, що забезпечують розпушування, інтенсивне перемішування і аерації забрудненого ґрунту.

Біологічні заходи передбачають залежно від характеру забруднення і вимог замовника, заходи: активізацію аборигенної мікрофлори; внесення добрив; внесення біопрепарату.

Вуглеводеньокиснюючі бактерії застосовуються у вигляді біопрепарату, що пройшли державну сертифікацію і допущені для застосування.

Рівень ремедіації забруднених об'єктів залежить від подальшого використання відновлюваної площі і може варіювати від рівня гранично-допустимої концентрації залишкових вуглеводнів до 8,0 % і вище в залежності від того, чи буде вона використовуватися для сільськогосподарських чи промислових потреб, для цивільного будівництва або відпочинку людей.

Переваги: порівняно невисока вартість. Відсутність необхідності залучення значної кількості транспорту і технічних засобів. Недоліки: залежність результатів від ризиків повторного викиду забруднювача. Обмежена глибина обробки ґрунту. Залежність від погодних умов на очищуваному об'єкті.

Біоремедіація води/ґрунту за допомогою біопрепарату «Родер». Відомий біопрепарат «Родер» для очистки ґрунту, прісних і мінералізованих вод від нафти і нафтопродуктів [*Патент RU на изобретение №2312891, 2007*]. Розроблений винахід відноситься до галузі біотехнології і стосується високо ефективного препарату «Родер» на основі штамів *Rhodococcus ruber* ВКМ Ас-1513Д і *Rhodococcus erythropolis* ВКМ АС-1514Д, вирощуваних на середовищах з високим вмістом морської солі.

Відселекціоновані мікроорганізми, що входять до складу препарату, здатні розмножуватися і деградувати вуглеводні нафти в широкому діапазоні солоності (0,05–10%) (оптимальна солоність середовища 3–5%) і температур (8–35 °С) (оптимальна температура 25–27 °С).

У лабораторних умовах досягався 81% ступінь очищення ґрунту від нафтового забруднення; в природних умовах на ґрунті за один сезон ступінь очищення сягав 65%, а на водних поверхнях – 99% від нафтового забруднення.

Ефективність препарату висока як в різних ґрунтах, так і в прісній, і морській воді. Біопрепарат «Родер» (Серт. №. 77.99.04.515Д.004855.08.01, Мін-во охорони здоров'я РФ) являє собою концентровану суспензію (щільність клітин –  $10^9$ – $10^{10}$  кл/мл) непатогенних, життєздатних та активних клітин бактерій-деструкторів вуглеводнів, виділених з ґрунту і відносяться до роду *Rhodococcus*.

Діапазон вуглеводневого забруднення, який ефективно деградує біопрепарат Родер, варіює від 0,1 до 240 г/кг. Температурний діапазон рН застосування біопрепарату – 10–35 °С і 5,5–7,8 відповідно.

Робоча суспензія біопрепарату збагачується мінеральними компонентами – джерелами Нітрогену і Фосфору і вноситься в кількості 0,1–1 кг на 1000 м<sup>2</sup> водної поверхні або ґрунтово-ґрунту, відповідно.

Тривалість обробки – в літній період від двох тижнів до кількох місяців в залежності від ступеня забруднення. При високих рівнях вуглеводневого забруднення рекомендується застосовувати біопрепарат протягом двох – трьох сезонів.

Біопрепарат «Родер» створений для мікробіологічного очищення водної поверхні і ґрунтів від забруднень нафтою і нафтодуками, в тому числі після застосування механічних, адсорбційних і хімічних методів. Він може також застосовуватися для очищення ємностей і труб від парафінових, смоляних і асфальтенових відкладень. На забруднених нафтою ґрунтах (старі розливи) з концентрацією нафти 150–240 г/кг при сприятливих погодних умовах біопрепарат Родер деградує нафту на 57–65 % за один теплий сезон. Робочий розчин біопрепарату вноситься розпилюванням.

Переваги: численні перевірки в лабораторних і польових умовах, у тому числі в Західному Сибіру і Республіки Комі, показали високу ефективність біопрепарату для біоремедіації водних поверхонь і різних ґрунтів *in situ*. Біопрепарат може успішно застосовуватися і в технологіях біоремедіації *ex situ*.

Відомий винахід, що відноситься до галузі біотехнології і може бути використаний при очистці ґрунту, води і морських акваторій від забруднення нафтою і нафтопродуктами.

Асоціація штамів бактерій *Rhodococcus* sp. ВКМ Ас-2532Д, *Rhodococcus* sp. ВКМ Ас-2533Д, *Pseudomonas* sp. ВКМ В-2387Д і *Pseudomonas putida* ВКМ В-2380Д, які продукують біоемульгатори, для біодеградації нафти і нафтопродуктів в ґрунту, прісній і морській воді.

Використання асоціації штамів дозволяє здійснювати деградацію нафти і нафтопродуктів при підвищеній концентрації солі як при нормальній, так і при низькій температурі [*Патент RU на изобретение №2571180, 2013*].

Запропоновано спосіб очищення від нафти і нафтопродуктів солоноватоводних і морських об'єктів і екосистем. Здійснюють контактування вуглеводнів нафти, що підлягають розкладанню, з біопрепаратом, що складається з суміші нафтоокислюючих штамів культур *Pseudomonas azotoformans* ВКМ У-2762Д, *Microbacterium* видів ВКМ У-2615Д, *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2613Д, взятих у співвідношенні 1:1:1.

Титр клітин в готовому препараті становить не менше  $10^{10}$  клітин на 1 м. Винахід дозволяє здійснювати очищення від нафтових забруднень солоноватоводних і морських об'єктів в діапазоні температур від 0 до 25 °С, в тому числі очистки поверхні водою від плаваючої нафти, льоду і крижаної шуги від нафти, товщі води від розчинених вуглеводнів, донних відкладень і берегової зони водних об'єктів від осаджуваної нафти [*Патент RU на изобретение №2412912, 2011*].

Відомий винахід, що відноситься до біотехнології і стосується мікробних препаратів, які можуть бути використані для очищення об'єктів від нафти і нафтопродуктів.

Мікробний препарат складається з суміші природних вугледеньокислюючих культур мікроорганізмів, виділених методом

селекції з природного співтовариства мікроорганізмів, причому культури мікроорганізмів виділені з співтовариства мікроорганізмів, що мешкають на морських бурих водоростях, принаймні, одного біологічного роду.

Винахід дозволяє проводити очищення води і будь-яких твердих об'єктів від нафти і нафтопродуктів з більш високою швидкістю і ефективністю очищення, навіть при підвищеній концентрації солі і за низької температури, в тому числі в районах з коротким тепловим періодом [*Отчет о НИР № 10-04-98804*].

Недоліком розробленого мікробного препарату є його однофакторна біотехнологічна дія, на жаль, не здатен сорбувати іони важких металів і не є антагоністом патогенної мікробіоти.

Перелічені вище бактеріальні препарати не можуть бути застосовані для ліквідації аварійних розливів нафти в режимі негайного реагування, так як для їх приготування потрібно не менше 2–3 діб.

Застосування більшості з перерахованих вище бактеріальних препаратів на морі (водоймі другої категорії водокористування відповідно до СанПіН 4630-88. Г.) сумнівні з міркувань медико-санітарного характеру.

Оптимальним варіантом вирішення проблеми очищення морських вод є розробка препаратів, що володіють властивостями сорбентів і біопрепаратів на основі бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти, сорбентів іонів важких металів і антагоністів патогенних бактерій.

Викладене свідчить про необхідність розробки комплексних високоефективних екобезпечних біотехнологій ремедіації прибережного морського середовища, призначених для очищення навколишнього середовища як від біологічних забруднювачів, так і високотоксичних хімічних полютантів неорганічної та органічної природи.

До таких препаратів відноситься вітчизняний біопрепарат нового покоління «Еконадін», який є бактеріальним препаратом з сорбційно-деструктивною активністю щодо широкого спектра забруднювачів, переважно вуглеводнів нафти зокрема [*Соловьев В.И., Кожанова Г.А., Гудзенко Т.В.*; <http://www.nextonmarket.com/articles/read/1526>].

«Еконадін» (ТУ У 30171732-001-2000 Препарат бактеріальний «Еконадін», реєстрація в Держстандарті, № 095/004466) являє собою порошок коричневого кольору, дисперсний, або з волокнистими включеннями, плавучий, гідрофобний.

В основі препарату – бактерії супердеструктори вуглеводнів нафти, іммобілізовані за спеціальною технологією на органічному субстраті - торфі. Екологічно чистий, не токсичний, без запаху.

Сорбційна ємність від 1:5 до 1:10 в залежності від виду нафтопродукту і модифікації препарату. Явище десорбції нафтопродуктів, на відміну від інших сорбентів, практично відсутня.

Первинна сорбція вуглеводнів нафти препаратом супроводжується біокаталітичною трансформацією з подальшою деструкцією нафтового забруднення в природних умовах.

Природна нафтоокислююча мікробіота природного середовища не пригнічується, а активізується, крім того, поліпшуються санітарно-гігієнічні показники води, за рахунок прояву антагоністичної дії на патогенні мікроорганізми.

Біотехнологічний метод з використанням препарату «Еконадін» застосовується в єдиному комплексному рішенні ліквідації нафтового розливу після збору основного забруднення механічними засобами.

Використання біотехнології із застосуванням препарату «Еконадін» в арсеналі засобів для швидкого реагування при ліквідації нафтового забруднення води і берегової зони дозволяє: блокувати забруднення в найкоротші терміни і попередити його поширення; ліквідувати забруднення з мінімальним екологічним збитком; забезпечити подальшу пролонговану дію по відновленню природних біоценозів із залученням і стимуляцією самоочисних механізмів (рис. 30).

Препарат «Еконадін» призначений:– для швидкої ліквідації розливів нафти, нафтопродуктів, газового конденсату на поверхні води (в акваторіях портів і судноремонтних заводів, відкритому морі, лиманах, особливо при ліквідації забруднення в місцях, недоступних механічним засобам збору нафтопродуктів – в глухих кишнях причалів і підпричального просвітах, на плавневих ділянках, болота і ін.);– для очищення берегової смуги, забрудненої нафтопродуктами в результаті аварійних розливів на воді, в тому

числі в рекреаційних зонах (на пляжах); – для нафтовмісних стічних вод нафтоперевалочного комплексів, баластних і лляльних суднових вод.



**Рис. 30. Очисні споруди «Еконад»**

[<https://docplayer.ru/74120411-Nauchno-proizvodstvennoe-predpriyatie-ekonad.html>]

На жаль, відсутні відомості про його біохімічну-активність щодо забруднювачів різної природи за умов їх сумісної присутності у концентраціях, що значно перевищують норму ГДК [Соловьев В.И., Кожанова Г.А., Гудзенко Т.В., Губанов В.В. <http://www.nextonmarket.com/articles/read/1526>].

Висвітлено ефективність нового біотехнологічного прийому за участю бурих водоростей і нафтоокиснюючих бактерій в очистці морської акваторії від нафтових забруднень [Отчет о НИР № 10-04-98804; Краснояруженская М.А., Дементьев М.С., 2006].

В результаті експериментів, проведених на експериментальній плантації-біофільтрі, виявлена роль бурих водоростей і вуглеводень-окиснюючих бактерій в очищенні морської акваторії

від забруднення нафтопродуктами.

Вперше: показана можливість річного плантаційного вирощування *Laminaria saccharina* і *Fucus vesiculosus* в двох горизонтах. Проаналізовано діапазон толерантності у різних видів водоростей-макрофітів до нафти і нафтопродуктів.

Виявлено найбільшу стійкість у *F. vesiculosus* на всіх стадіях онтогенезу до даного токсиканту в порівнянні з іншими мешканцями літоралі і субліторалі Баренцева моря.

Визначено можливість і швидкість акумуляції дизельного палива фукус пухирчастий. Визначено кількісний та якісний склад мікроорганізмів на поверхні фукуса і ламінарії.

Методами молекулярної біології та фізіології визначені до виду вуглеводень-окиснюючі бактерії, які увійшли в створювану колекцію. Простежено роль вуглеводень-окиснюючих бактерій в нейтралізації нафтопродуктів.

Показана ефективність симбіотичної асоціації бурих водоростей і вуглеводень-окиснюючих бактерій в очищенні морської води від нафтового забруднення [Отчет о НИР № 10-04-98804].

Відомий біопрепарат, спосіб одержання біопрепарату для очищення морської води від нафти (варіанти) [Патент на изобретение RUS 2404138, 2008; Патент на изобретение RUS 2404139, 2008].

Винахід [Патент на изобретение RUS 2404139, 2008] відноситься до засобів боротьби з нафтовим забрудненням і може бути використаний при ліквідації наслідків аварійних нафтових розливів в морі.

Біопрепарат на основі вуглеводень-окиснюючого штаму *Phyllobacterium myrsinacearum* ВКПМ В-9079 отримано шляхом послідовного культивування штаму на середовищі з пептоном, сахарозою, джерелом фосфору, калію, магнію, і на середовищі з кукурудзяним екстрактом, сахарозою, джерелом фосфору, калію, магнію.

З подальшим розведенням отриманого концентрату стерильною дистильованою водою, в яку додають (г/л): концентрат бактеріальної суспензії – 100,0; меляса – 20,0;  $K_2HPO_4$  – 1,5;  $KH_2PO_4$  – 1,5;  $MgSO_4$  – 1,5, або змішування отриманого концентрату з 15% розчином меляси і водою в співвідношенні 1: 1: 1,

інокулювання отриманою сумішшю стерильного вермикуліту, взпученого з подальшим поверхневим культивуванням протягом 3–5 днів при 18–20 °С.

Біопрепарат ефективно і в короткий термін утилізує нафтові вуглеводні, в тому числі поліядерні ароматичні. Зменшення вмісту сумарних нафтових вуглеводнів через 15 діб очищення рідким біопрепаратом склало 84,1%, сухим біопрепаратом – 78,1%.

Застосування рідкої форми біопрепарату знизило сумарний вміст поліароматичних вуглеводнів на 75,2%, сухої форми – на 76,9%.

Сучасні біотехнології очищення водних об'єктів на основі мікроорганізмів та реліктових видів вищої водної рослинності детально представлено в роботах [Пирог Т.П. и др., 2005; Никутина О.Г., 2009].

## **6.2. Мікробіологічна трансформація вуглеводнів нафти**

Серед заходів, що вживаються з метою очищення навколишнього середовища від забруднень, важливе місце займає інтенсифікація мікробіологічних способів деструкції нафти. При цьому передбачається активізація не тільки аборигенної мікробіоти забруднених об'єктів, але і внесення біопрепаратів, складених із біохімічно-активних штамів- нафтодеструкторів.

При цьому важливо знати механізми і ступінь біоокиснення різних класів нафтових вуглеводнів, конкретними родами вуглеводеньокиснюючими мікроорганізмами. Більшість нафтоокиснюючих мікроорганізмів ізольовано із ґрунту і води.

Відомо понад 22 роди бактерій, 31 рід мікроскопічних грибів і в тому числі 19 дріжджів, виділених з ґрунтових екосистем, здатних до біодеградації різних нафтових вуглеводнів.

З морського середовища виділено представників 25 родів нафтоокиснюючих бактерій і 27 родів мікроскопічних грибів: бактерії – *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Desulfovibrio*, *Eneribacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Methanobacterium*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Serratia*, *Spirillum*,

*Streptomyces, Thiobacillus, Vibrio*; міцеліальні гриби – *Aspergillus, Cephalosporium, Penicillium, Mucor, Fusarium, Trichoderma*; дріжджі – *Candida, Debaryomyces, Endomyces, Endomycopsis, Hansenula, Rhodotorula, Saccharomyces, Torulopsis, Trichosporon*; ціанобактерії – *Agmenellum, Aphanocapsa, Lyngbya, Microcoleus, Oscillatoria, Phormidium, Plectonema* [Тимергазіна І.Ф., Переходова Л.С., 2012].

Розрізняють такі види транспорту нафтових вуглеводнів до клітини мікроорганізмів: *пасивний перенос* (процес не вимагає енергії, і швидкість залежить від концентрації субстрату в середовищі), пов'язаний із простою дифузією – (неспецифічне надходження речовин у клітину, при якому різні сполуки проникають в клітину, не взаємодіючи з будь-яким переносником) або полегшеною дифузією (специфічний процес, при якому речовина, що переноситься, обернено зв'язується з переносником, який знаходиться в мембрані, і надходить в клітину у вигляді субстрат-білкового комплексу); та *активний перенос* (речовина надходить в клітину проти градієнта концентрації в середовищі; процес вимагає витрат енергії і відбувається за допомогою специфічних білків-переносників).

Подальші обмеження пов'язані з розчинністю нафтових вуглеводнів у воді. Їх надходження до мікробної клітини може здійснюватися зі стану істинного розчину або при безпосередньому контакті їх з мікробною клітиною.

Мікробіологічні перетворення нафтових вуглеводнів являють собою особливу область з причини деяких особливостей цих процесів. Їх специфіка обумовлена своєрідністю нафтових вуглеводнів як хімічних сполук з граничною відновленістю, пов'язаною з цим гідрофобними властивостями.

Гідрофобність вуглеводневих молекул має визначальне значення для хімізму мікробіологічного окислення цих сполук, їх транспортуванню в клітини мікроорганізмів-потенційних деструкторів нафти.

Отже, гідрофобний характер вуглеводнів нафти є причиною того, що процеси окиснення здійснюються оксигеназами, на відміну від окиснення більш гідрофільних речовин, що відбувається під дією дегідрогеназ.

Мікроорганізми мають властивість вибірково та в різному ступені окиснювати різні вуглеводні нафти, причому ця здатність визначається не тільки відмінністю в структурі речовини, але і кількістю атомів карбону.

У переважній більшості випадків в результаті первинної ферментативної атаки молекул нормальних парафінів відбувається окиснення термінального атома карбону. Першими стабільними продуктами окиснення вуглеводнів нормальної будови є первинні спирти, з наступним їх біологічним перетворенням у відповідний альдегід і подалі – у жирну кислоту.

Механізм засвоєння жирних кислот, що виникають при окисненні вуглеводнів нафти, протікає шляхом  $\beta$ -окиснення, що полягає в послідовному відщепленні двовуглецевих фрагментів у вигляді активного ацетату, що надходить в цикл трикарбонових кислот *Plectoneta* [Тимергазіна І.Ф., Переходова Л.С., 2012].

Редукція відповідної жирної кислоти, що утворилася в результаті мікробіологічного окиснення *n*-алканів поряд з класичним  $\beta$ -окиснення може включати ряд мінорних варіантів:

А)  $\omega$ -гідроксинювання, що приводить до утворення  $\omega$ -оксикарбонових, а потім дикарбонових кислот з подальшою фрагментацією;

Б)  $\alpha$ -окиснення, декарбоксилювання, яке доведено в тих випадках, коли субтермінально атом карбону несе кетогрупу або гідроксил;

В) дегідрогенізація жирної кислоти з подальшим окиснювальним розщепленням подвійного зв'язку.

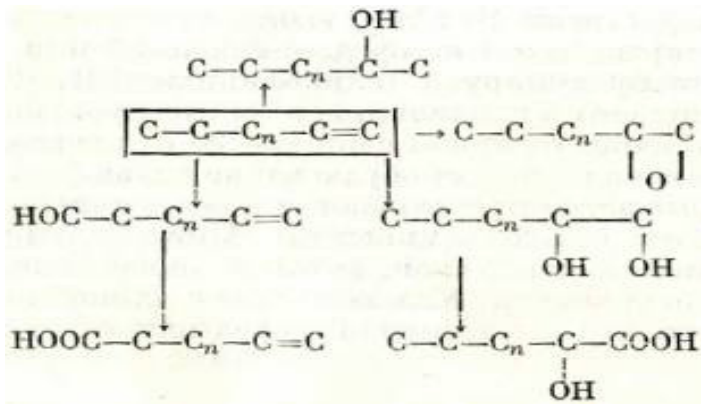
Мікробіологічне окиснення алкенів може включати наступні реакції (рис. 31):

А) окиснення метильної групи з утворенням ненасичених кислот;

Б) утворення епоксидів за подвійним зв'язком;

В) утворення діолів.

Ненасичені вуглеводні можуть окиснюватися одночасно і по метильній кінцевій групі і за подвійним зв'язком молекули. Детальні дослідження, проведені Ван-дер-Лінденом і Тійссе виявили ще один шлях окиснення алкенів, що веде до утворення епоксидів, діолів,  $\alpha$ -оксикислот і ненасичених кислот [Тимергазіна І.Ф., Переходова Л.С., 2012].



**Рис. 31. Схема реакцій окиснення алкенів бактеріями**  
 [Скрябин Г.К., Головлева Л.А., 1976]

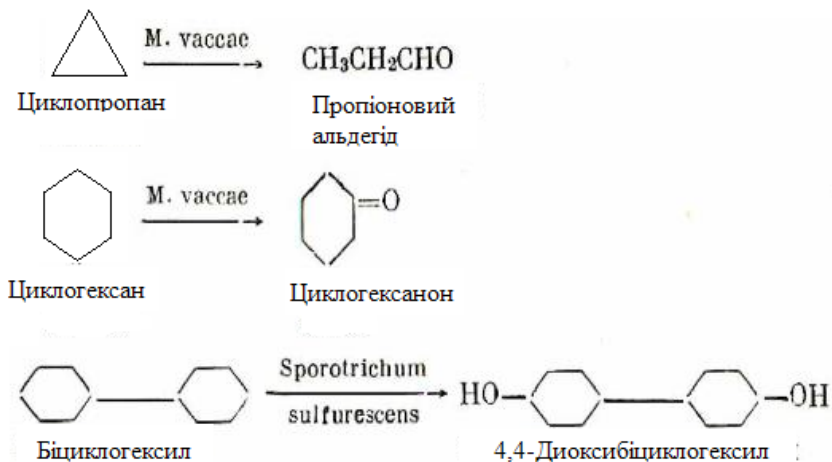
Вивчаючи окиснення тетрадецена культурою *Pseudomonas aeruginosa*, A.J. Markovetz з співробітниками виявили обидва шляхи окиснення. Були виділені і ідентифіковані 13-тетрадеценова кислота і тетрадеканол-2, тобто метильна група і термінальний подвійний зв'язок піддавалися атаці цією культурою. Пізніше були виявлені обидва шляхи окиснення гексадецена-1 і октадецена-1 культурою *Micrococcus cerificans* [Скрябин Г.К., Головлева Л.А., 1976; Тимергазіна И.Ф., Переходова Л.С., 2012].

Дослідження по окисненню олефінів дріжджами і грибами також свідчать про наявність термінального і субтермінального окиснення, в результаті чого утворюються відповідні  $\omega$ -ненасичені кислоти, насичені кислоти,  $\omega$ -ненасичені спирти, етиловий, діоли [Скрябин Г.К., Головлева Л.А., 1976].

Вперше мікробіологічна трансформація циклопарафінів описана J.S. Ooyama і J.W. Foster. Мікроорганізм *Mycobacterium vaccae*, здатний засвоювати ізоалкани (зокрема 2-метилбутан), окиснювати циклічні алкани до відповідних сполук, що наведені на рис 32–34 [Скрябин Г.К., Головлева Л.А., 1976].

Більшість мікробних шляхів метаболізму високотоксичних циклічних сполук можна звести до поєднання кількох послідовних біохімічних реакцій, що включають реакції монооксигенування метильної і метиленової груп, дегідрування окси- і оксо-сполук,

утворення і окиснення подвійного зв'язку, моно- і діоксигенування ароматичного кільця, декарбосилування карбонових кислот, гідролізу складних ефірів і лактонів [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].



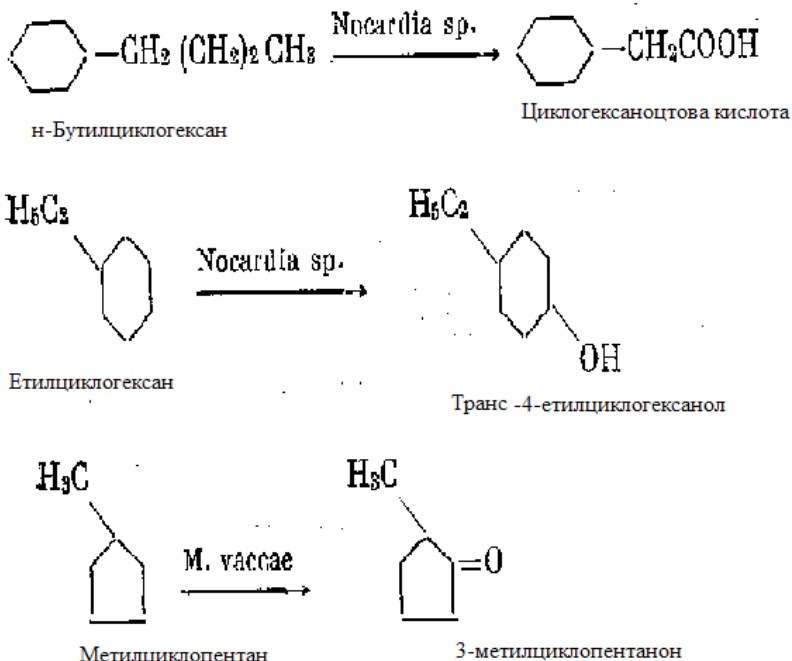
**Рис. 32. Схема реакцій окиснення циклопропана, циклогексана і біциклогексіла**

[Скрябин Г.К., Головлева Л.А., 1976]

Особливості розкладання мікроорганізмами циклічних сполук в аеробних умовах викладені в роботі [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017]. Циклічні алкани відносно стійкі до мікробної атаки завдяки термінальній метильній групі, але ряд циклічних алканів здатні до біодеградації.

Деякі бактерії здатні використовувати циклогексан як єдине джерело карбону та енергії. Відмінною здатністю біодеградації циклічних алканів є специфічна послідовність реакцій розщеплення аліциклічного кільця. Залежно від структури вуглеводню розщеплення аліциклічного кільця відбувається на початкових або на більш пізніх етапах. Метаболізм циклоалканів починається з утворенням спиртів.

Циклогексанон був знайдений в якості метаболіту при деградації циклогексану безклітинним екстрактом *Nocardia coralina* за



**Рис. 33. Схема реакцій окиснення н-бутилциклогексана, етилциклогексана і метилциклопентана**  
 [Скрябин Г.К., Головлева Л.А., 1976]

присутності NADH і O<sub>2</sub>. Цю реакцію каталізує специфічна монооксигеназа, залежна від цитохрому P-450.

Індукція одних і тих самих ферментів при рості бактерій на циклогексані і окиснення підтверджує, що циклогексанол є проміжним продуктом катаболізму циклогексану.

Біодеградація циклогексану здійснюється шляхом, який є характерним для вторинних спиртів, і включає послідовне утворення кетону, лактону, з подальшим розривом циклічного кільця (рис. 34).

Гомологи бензолу (толуол, ксилол та ін.) можуть бути токсичними для мікроорганізмів, але порівняно легко підлягають біодеградації за низьких концентрацій.

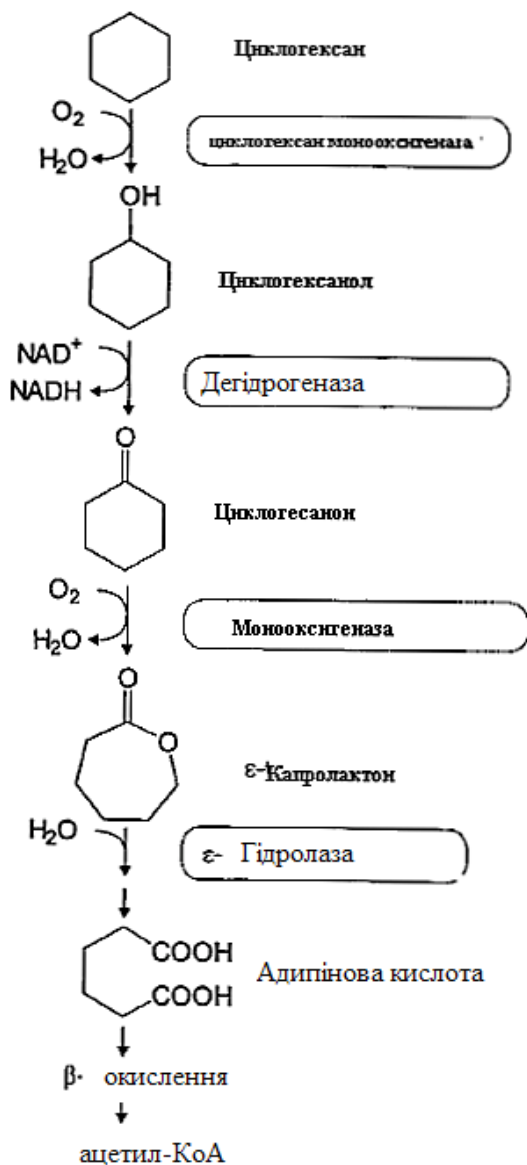
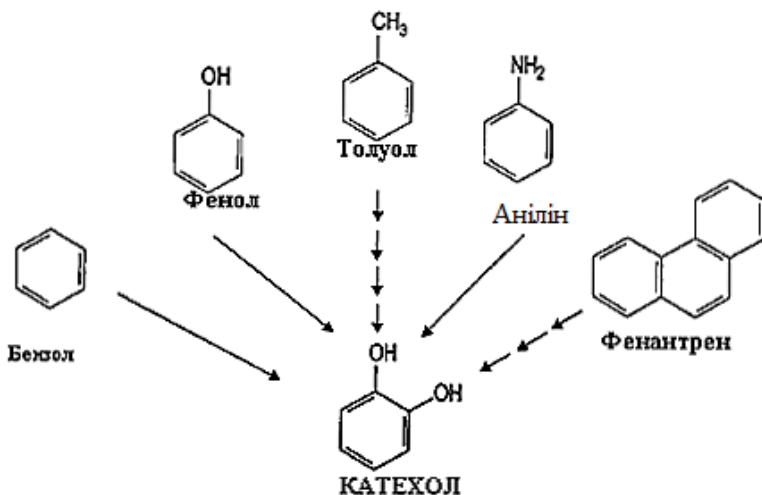


Рис. 34. Біодеградація циклогексану  
 [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017]

Швидкість утилізації поліциклічних ароматичних вуглеводнів зменшується зі збільшенням числа кілець в молекулі. Ароматичні вуглеводні стійкіші до мікробної біодеградації, ніж аліфатичні [Тимергазіна И.Ф., Переходова Л.С., 2012; Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].

Основна стратегія в біодеградації мікроорганізмами ароматичних вуглеводнів це утворення дифенолу і подальший розрив ароматичного кільця (рис. 35) [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018].

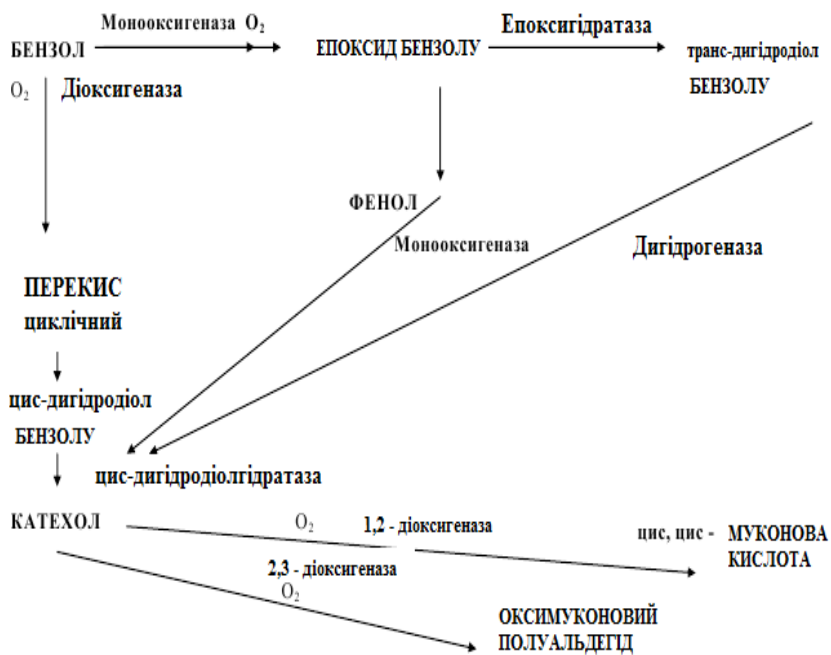


**Рис. 35. Центральний продукт деградації ароматичних сполук – катехол (пірокатехін, 1,2 – дигідроксибензол)**

[Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017]

Біодеградація ароматичних вуглеводнів починається по одній з трьох реакцій: 1) діоксигенування ароматичного кільця; 2) монооксигенування ароматичного кільця; 3) монооксигенування аліфатичного бокового ланцюга.

Ароматичні ядра ксенобіотиків розкладаються мікроорганізмами до фенолів, транс і цис-дигідродіолів, катехолу та продуктів деградації цис, цис- муконової кислоти і  $\alpha$ -оксимуконового напівальдегіду (рис. 36).

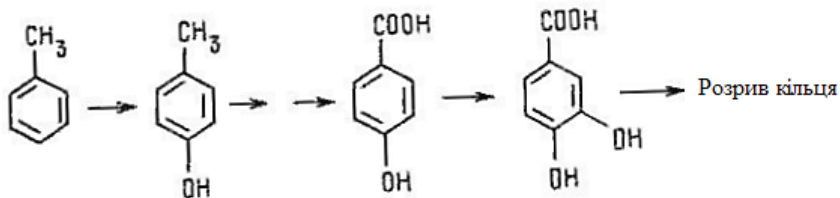


**Рис. 36. Політрансформація ароматичних ядер ксенобіотиків (на прикладі бензолу)**

[Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017]

Реакції бактеріального монооксигенування ароматичного кільця вуглеводнів, що призводять до утворення відповідних фенольних структур, спостерігаються значно рідше, ніж реакції діоксигенування. Так, наприклад, бактеріальна біодеградація толуолу і о-ксилолу починається з реакції монооксигенування ароматичного кільця. Продуктами монооксигенування цих метилбензолів є відповідно крезоли і ксиленоли (рис. 37) [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018].

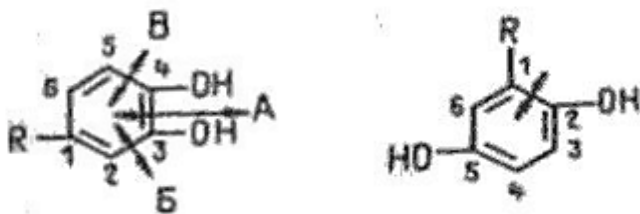
Деградація толуолу, ди- і триалкілбензолів починається з окиснення метильної групи до карбоксильної і включає утворення заміщених катехолів перед розщепленням ароматичного кільця. Продукт розщеплення ароматичного кільця може утилізуватися далі за гідролітичним шляхом або за оксалато-кродонатним шляхом [Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018].



**Рис. 37.** Біодеградація толуолу бактеріями *Pseudomonas mendocina*

[Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017]

Останньою стадією метаболізму циклічних ароматичних сполук мікроорганізмами є розщеплення кільця. Для здійснення цієї реакції ароматичне кільце повинно містити щонайменше дві окси- групи в орто- або пара-положенні по відношенню один до одного. У деяких випадках розрив ароматичного кільця відбувається при введенні в кільце трьох гідроксильних груп. Залежно від положення зв'язку, що розривається, відносно гідроксильних груп і замісників розрізняють три типи розриву кільця о-дифенолу: інтрадіольний (А), екстрадіольний проксимальний (Б), екстрадіольний дістальний (В), (рис. 38).



**Рис. 38.** Типи розриву кільця о- і п-дифенолу

Розщеплення кільця за орто-шляхом каталізує 1,2-діоксигеназа, а розщеплення кільця за мета-шляхом каталізує 2,3-діоксигеназа (рис. 39).

Важкоокислювальні циклічні сполуки – ароматичні вуглеводні, ароматичні кислоти підлягають анаеробній біодеградації. Анаеробна біодеградація бензолу і толуолу здійснюється мета-

ногенними консорціумами бактерій в умовах денітрифікації. При цьому кисень впроваджується в молекулу з води, а атом карбону з метильної групи толуолу переходить в вуглекислий газ, а не в метан (рис. 40).

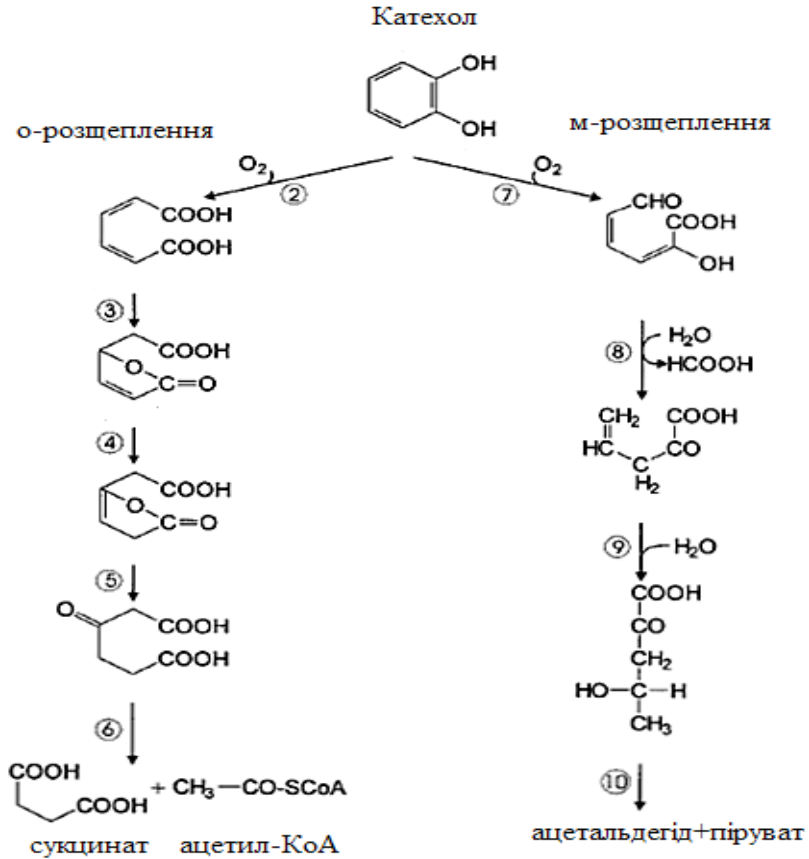
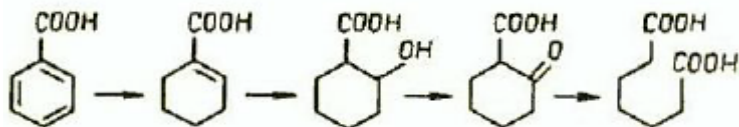


Рис. 39. Два шляхи аеробної біодеградації катехолу

1. фенолмонооксигеназа; 2. катехол 1,2-диоксигеназа; 3. муколактоназа; 4. муколактонізомераза; 5. оксидипінат енол-лактон гідролаза; 6. оксидіпінат сукциніл КоА-трансфераза; 7. катехол 2,3-диоксигеназа; 8. 2-оксимукон напівальдегід-гідролаза; 9. 2-оксопент-4-енолова кислот-гідролаза; 10. 4-гідрокси-2-оксвалерат-алдолаза



Біодеградація циклічних ароматичних кислот в аеробних умовах починається з активування молекули за допомогою коферменту КоА [Shailu Dalal et al., 2014]. Потім відбувається відновлення ароматичного кільця і його подальше гідроксилування. Відновлення призводить до розриву кільця з утворенням дикарбонової кислоти. Вона включається в процес  $\beta$ -окиснення, з утворенням ди - КоА (рис. 42).



**Рис. 42. Біодеградація бензойної кислоти фототрофними бактеріями (*Rhodopseudomonas palustris* і ін.)**

Подібні реакційні послідовності були встановлені при біодеградації бензойної кислоти метаногенними і денітрифікуючими бактеріями (рис. 43) [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017].

Метаногенні бактерії відновлюють ароматичне кільце і потім дегідроксилують його з утворенням фенолу. Подальші відновлювальні процеси призводять до руйнування кільця.

Стійкість деяких циклічних ароматичних сполук, в тому числі високо хлорованих ароматичних сполук, може бути подолана умовами навколишнього середовища або транспортуванням проміжних речовин з безкисневої зони в кисневу [Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О., 2017; Gudzenko Tatyana, Wolodymyr Iwanycja et al., 2018].

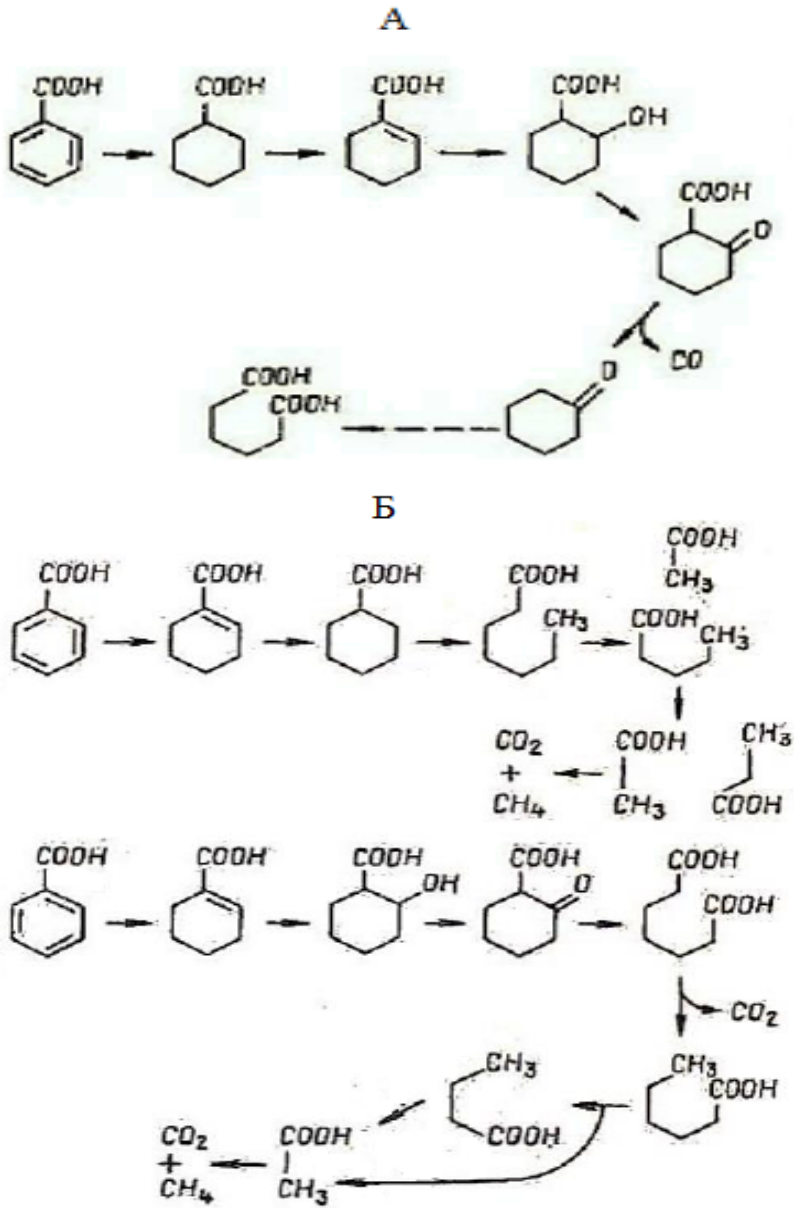


Рис. 43. Біодеградація бензойної кислоти денітрифікуючими (А) і метаногенними (Б) бактеріями

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. 05.23-19И.405 Разработка технологии биологического способа очистки промышленных, поверхностных и грунтовых вод, загрязненных фенолами // РЖ 19И. Общие вопросы химической технологии. – 2005. – № 23.
2. Абрамзон А.А. Поверхностно-активные вещества: Свойства и применение. – Л.: Химия, 1981. – 304 с.
3. Абрасимов А.А. Экология переработки углеводородных систем. Москва: Химия, 2002. – С. 33–35.
4. Айрапетян Т. С. Конспект лекцій з дисципліни «Технологія очистки промислових стічних вод» (для студентів 4 курсу денної форми навчання напряму підготовки 6.060103 «Гідротехніка (Водні ресурси)», 0926 «Водні ресурси»). – Х.: ХНАМГ, 2008. – 81 с.
5. Аронбаев С.Д., Насимов А.М., Арондбаев Д.М. Биосорбция фенола из водных растворов с использованием клеточных стенок дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Вода: химия и экология. – 2014. – № 1(66). – С. 54–63.
6. Бабошин М.А., Баскунов Б.П., Финкельштейн З.И., Головлев Л.Е., Головлева Л.Л. Микробная трансформация фенантрена и антрацена // Микробиология. – 2005. – Т. 74, №3. – С. 357–364.
7. Баландина А.Г., Хангильдин Р.И., Ибрагимов И.Г., Мартяшева В.А. Анализ воздействия предприятий нефтехимического комплекса на гидросферу и пути минимизации их негативного влияния // Башкирский химический журнал. – 2015. – Т. 22, №1. – С. 115–126.
8. Балашова Н.В., Кошелева И.А., Филонов А.Е. Біодеструкція поліциклічних ароматичних вуглеводнів // Микробиология. – 1997. – Т. 66, № 4. – С. 488–493.
9. Барбара Эдер. Биогазовые установки: практическое пособие / Барбара Эдер, Хайнц Шульц – Издано в 1996 г. Перевод с немецкого выполнен компанией Zorg Biogas в 2011 г. Под научной редакцией И.А. Реддих. — 268 с.
10. Біотехнології в екології : навч. посібник / А.І. Горова, С.М. Лисицька, А.В. Павличенко, Т.В. Скворцова. – Д.: Націо-

- нальний гірничий університет, 2012. – 184 с.
11. Бураковский А.И., Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н. Нонилфенол как повреждающий фактор регуляторных систем организма // Труды БГУ. – 2010. – Т. 5, Ч. 1. – С. 243–253.
  12. Быкова Г.С., Шаталаев И.Ф. Очистка воды от фенолов и нафтолов водным растением наядой мелкозубчатой // Безопасность жизнедеятельности. – 2012. – № 4. – С. 13–16.
  13. Быкова Г.С., Шаталаев И.Ф., Воронин А.В. Фитомасса наяды мелкозубчатой в доочистке фенолсодержащих загрязненных вод фармацевтических производств // Медицинский альманах. – 2014. – №1(31). – С. 102–105.
  14. Влияние загрязнения окружающей среды на здоровье человека: Материалы 1-й Всерос. научн. конф. с междунац. участием (Новосибирск, 9-11 декабря 2002 г) / Новосибирская экологическая академия / Под ред. Ю.П. Гичева. – Новосибирск, 2002. – 241 с.
  15. Войцехівська О.В., Ситар О.В., Таран Н.Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія : Біологія. – 2015. – Вип. 1. – С. 104–119.
  16. Восстановление нефтезагрязнённых почвенных экосистем / Под ред. М.А. Глазковской.- М. Наука, 1988. – 264 с.
  17. Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв. Государственный комитет СССР по гидрометеорологии и контролю природной среды / Под ред. С.Г. Малахова. – Часть II. – М.: Моск. Отд-ние гидрометеоиздата. – 1984.
  18. Галкін Б.М., Іваниця В.О., Філіпова Т.О. Механізми біодеградації ксенобіотиків мікроорганізмами. – Одеса: вид-во ОНУ імені І. І. Мечникова, 2017. – 104 с.
  19. ГН 2.1.5.689-98. ПДК химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового пользования. – 1998.
  20. Гольдберг В. М. Техногенное загрязнение природных вод углеводородами и его экологические последствия / В.М. Гольдберг, В.П. Зверев, А.И. Арбузов и др.– М.: Наука, 2001. – 125 с.

21. Гончарук В., Савлук О., Саприкіна М. Мікроміцети в питній воді: дослідження нового компонента гідробіоценозів і оцінювання його небезпечності для здоров'я населення України // Вісн. Нац. акад. наук України. – 2007. – № 12. – С. 21–24.
22. Гончарук Е.И., Сидоренко Т.И. Гигиеническое нормирование химических веществ в почвах. – М.: Медицина, 1986. – 304 с.
23. Гюнтер Л.Л., Гольдфарб Л.Л. Метантенки. — М.: Стройиздат, 1991. – 128 с.
24. Давиденко Т.И., Романовская И.И., Осейчук О.В., Севастьянов О.В. Окисление хлорфенолов с использованием пероксидазы хрена // Химия и технология воды. – 2004. – Т. 26, № 6. – С. 582–590.
25. Дмитриев А.Г. Проблема международного значения // Социальная работа. – 1999. – №2. – С. 33.
26. Дмитриев А.Г., Змиевец Ю.Ф., Рыженко Б.Ф., Сокол К.Г. Загадки ровесника динозавра // Социальная работа. – 1999. – №1/12. – С. 13.
27. Долина Л. Ф., Машихина П. Б. Осадки сточных и питьевых вод: проблемы и решение. – Д.: Континент, 2014. – 212 с.
28. Долинский С.К., Савустин В.П., Патлатюк Е.Г., Чаусов В.И. Задачи госинспекции охраны Черного моря в решении экологических проблем Черного моря // Экологические проблемы Черного моря // Сб. научн. статей ОЦНТЭИ. – Одесса: ОЦНТИ, 1999. – С. 3–11.
29. Доценко С.А., Рясинцева Н.И., Савин И.П., Саркисова С.А. Специфические черты гидрологического и гидрохимического режимов и уровня загрязнения прибрежной зоны моря в районе Одессы // Исследование шельфовой зоны Азово-Черноморского бассейна // Сб. научн. тр. МГИ НАН Украины. – 1995. – С. 31–34.
30. Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – С. 250 с.
31. ДСТУ 3812-98 Охорона довкілля та раціональне поводження з ресурсами. Контроль оперативних стічних вод очисних споруд міст і промислових підприємств: Загальні положення. – Введ. 1999.07.01. – Офіц. вид. – К.: Держстандарт України, 1999. – IV. 6 с.

32. Дягтярев В.П., Дегтярев С.В. Современная биотехнология очистки водных объектов на основе реликтовых видов высшей водной растительности // Изв. Южного федерального университета. Технические науки. – 1999. – Т. 14, Вып. 4. – С. 85–88.
33. Елин Е.С. Фенольные соединения в биосфере. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. – 392 с.
34. Казанкапова М.К. Создание модифицированных углеродминеральных сорбентов для очистки природных объектов от техногенных загрязнений. – Алматы: Казахский нац. ун-т имени аль-Фараби, 2013. – 134 с.
35. Карабин В.В., Козак Ю.З., Колодій В.В. Оцінка природних і техногенних ризиків забруднення фенолами питних вод Передкарпаття // Пошукова та екологічна геохімія. – 2006. – № 5. – С. 35–40.
36. Коростелева А.В. Способ очистки сточных вод от фенолов // Известия ПГПУ им. В.Г. Белинского. – 2011. – № 25. – С. 585–589.
37. Куликова И.Ю., Дзержинская И.С. Использование микробиологического метода для очистки нефтезагрязненной морской воды // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2007. – № 4. – С. 128–132.
38. Купман Н.Б. К вопросу о предполагаемом механизме действия поверхностно-активных веществ на организм животного // Гигиена и санитария. – 1974. – № 4. – С. 78–80.
39. Лыкова О.В., Гогина Е.С. Биофильтры, их преимущества и недостатки // Вестник МГСУ. – Спецвыпуск 1/2009. – С. 114–117.
40. Маркизова Н.Ф. Нефтепродукты: токсикология для врачей. Учебное пособие для студ. мед. вузов. – М.: Фолиант, 2004. – 128 с.
41. Маркова О.С. Исследование концентрирования, разделения и токсических свойств поверхностно-активных веществ и их метаболитов в воде: Дис...канд. биол. наук: 03.00.16. – Астрахань, 2004. – 123 с.
42. Медичний портал MedicLab (Medical information portal): електронний ресурс / Режим доступу: <http://mediclab.com.ua/>

index.php?newsid=13091

43. Миронов О.Г. Взаимодействие морских организмов с нефтяными загрязнениями. – Л.: Гидрометиздат, 1985. – 185 с.
44. Мони́на Т.Л., Андрущенко Б.Ф., Рябинин А.И., А.Г. Сотникова А.Г. Гидрохимические условия и состояние загрязнения вод Днепр-Бугского лимана // Исследование шельфовой зоны Азово-Черноморского бассейна // Сб. научн тр. МГИ НАН Украины. – 1995. – С. 54–55.
45. Никитина О.Г. Биотехнология очищения воды // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2009. – Т. 5, № 1. – С. 32–34.
46. Осадчий В.Ф., Яременко Л.В. Интенсивная биотехнология глубокой очистки сточных вод от органических загрязняющих веществ и соединений // Водоочистка. – 2009. – № 9. – С. 43–47.
47. Остроумов С. А. Биологическая активность вод, содержащих ПАВ // Химия и технология воды. – 1991. – Т. 13, N 3. – С. 270–282.
48. Отчет о НИР № 10-04-98804-р-север-а. Роль бурых водорослей и углеводородокисляющих бактерий в очистке морской акватории от загрязнения нефтепродуктами / Воскобойников Г.М., Ильинский В.В., Макаров М.В., Пуговкин Д.В., Рыжик И.В. – 2016.
49. Павленко М.І., Сорока Я.М., Гвоздяк П.І., Кухар В.П. Біодеструкція поліциклічних ароматичних вуглеводнів // Катализи и нефтехимия. – 2007. – №15. – С. 46–62.
50. Панов Г.Е., Петряшин Л.Ф., Лысяный Г.Н. Охрана окружающей среды на предприятиях нефтяной и газовой промышленности. - М.: Недра, 1986. – 244 с.
51. Патент RU на изобретение №2174496, МПК: 7С 02F 3/34 А, 7В 09С 1/10 В, 7С 12N 1/26 В. Биопрепарат "Родер" для очистки почв, почвогрунтов, пресных и минерализованных вод от нефти и нефтепродуктов // Мурыгина В.П., Войшвилло Н.Е., Калужный С.В. – 2001.
52. Патент RU на изобретение №2312891, МПК: С 12 N 1 20, С 02 F 3 34, С 02 F 101 30, В 09 С 1 10, С 12 R 1 01, С 12 R 1 38. Ассоциация штаммов бактерий, продуцирующих биоэмуль-

- гаторы, для деградации нефти и нефтепродуктов в почвах, пресной и морской воде // Филонов А.Е., Кошелева И.А., Шкидченко А.Н., Пырченкова И.А., Пунтус И.Ф., Гафаров А.Б., Боронин А.М. – Дата регистрации: 10.03.2006. Номер заявки: 2006107131/13. – 2007.
53. Патент RU на изобретение №2312891, МПК: С 12 N 1 20, С 02 F 3 34, С 02 F 101 30, В 09 С 1 10, С 12 R 1 01, С 12 R 1 38. Ассоциация штаммов бактерий, продуцирующих биоэмульгаторы, для деградации нефти и нефтепродуктов в почвах, пресной и морской воде // Филонов А.Е., Кошелева И.А., Шкидченко А.Н., Пырченкова И.А., Пунтус И.Ф., Гафаров А.Б., Боронин А.М. – Дата регистрации: 10.03.2006. Номер заявки: 2006107131/13. – 2007.
54. Патент RU на изобретение №2412912, МПК: С02F3/34 ; С12N1/26 ; С02F101/32. Микробный препарат для очистки объектов от нефти и нефтепродуктов // Нетрусов А.И., Семенов А.М., Семенова Е.В., Шеляков О.В., Иванов М.Н., Карпинчиков М.П. Дата регистрации: 25.12.2008. Номер заявки: 2008151454/10 – 2011.
55. Патент RU на изобретение №2571180, МПК: С02F3/34 ; С12N1/26 ; С02F101/32. Способ очистки от нефти и нефтепродуктов морских и солоноватоводных экосистем в условиях высоких широт // Заикин И.А., Чиковани М.А., Кравченко В.В., Щемелинина Т.Н., Маркарова М.Ю. – Дата регистрации: 20.08.2013. Номер заявки: 2013138582/10. – 2013.
56. Патент на изобретение RU 2129603. Штамм *Mycobacterium species* ЦКМ В 65-б, используемый для очистки пресной и морской воды от нефти и нефтепродуктов / Миронова Р.И., Носкова В.П., Расулова Г.Е., Холоденко В.П. – 1999.
57. Патент на изобретение RU 2312891. Ассоциация штаммов бактерий, продуцирующих биоэмульгаторы, для деградации нефти и нефтепродуктов в почвах, пресной и морской воде / Филонов А.Е., Кошелева И.А., Шкидченко А.Н., Пырченкова И.А., Пунтус И.Ф., Гафаров А.Б., Боронин А.М. – Оpubл.: 10.03.2006.
58. Патент на изобретение RUS 2404138 . Способ получения биопрепарата для очистки морской воды от нефти (варианты).

- Куликова И.Ю., Держинская И.С. – Оpubл.: 30.07.2008.
59. Патент на изобретение RUS 2404139. Биопрепарат для очистки морской воды от нефти. Куликова И.Ю., Держинская И.С. – Оpubл.: 30.07.2008.
  60. Патент на изобретение RU 2526496. Штамм *Rhodotorula* sp. для очистки почв, вод, сточных вод, шламов от нефти и нефтепродуктов. Маркарова М.Ю., Щемелинина Т.Н., Анчугова Е.М. – Оpubл.: 01.07.2013.
  61. Патент на изобретение RU 2553335. Штамм *Microbacterium* species для очистки солоноватоводных и морских экосистем от нефти и нефтепродуктов. Маркарова М.Ю., Щемелинина Т.Н., Заикин И.А., Чиковани М.А., Кравченко В.В.– Оpubл.: 20.08.2013.
  62. Патент України №29455. МПК C02 F1/00. Спосіб очищення стічних вод від фенолів / Осійчук О.В., Романовська І.І., Дєкіна С.С. – Оpubл.10.01.2008., Бюл.№ 1.
  63. Патент України на винахід №40058. МПК C02F 1/100. Спосіб очищення стічних вод від фенолу / Романовська І.І., Шестеренко Ю.А., Севастьянов О.В. – Оpubл. 25.03.2009, Бюл. № 6.
  64. Патент України на винахід. Метод очистки воды від ароматичних ксенобіотиків / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Горшкова О.Г., Волювач О.В., Конуп І.П., Беляєва Т.О. Номер заявки № а201804335 від 20.04.2018р. (отримано позитивне рішення кваліфікаційної експертизи від вересень 2019).
  65. Патент України на винахід. Мікробіологічний спосіб очистки воды від циклічних ароматичних ксенобіотиків/ Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Горшкова О.Г., Волювач О.В., Конуп І.П., Беляєва Т.О., Баранов О.О. Номер заявки № а201804338 від 20.04.2018р. (отримано позитивне рішення кваліфікаційної експертизи від вересень 2019) .
  66. Петров А.А., Салаватова Р.М. Биочистка сточных вод производства алкилфенолов // Естественные и технические науки. – 2011. – № 6 (56). – С. 144–145.
  67. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Волошина И.Н., Грегирчак П.Н. Использование иммобилизованных на керамзите клеток нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // Прикладная биохимия и микробиология. – 2005. –

- Т. 41, № 1. – С. 58–63.
68. Понятовський В. А. Поширеність ентеровірусів у стічних водах (огляд літератури) [Електронний ресурс] / В. А. Понятовський, В. В. Бобир // Вісн. наук. досліджень. – 2012. – № 1. – С. 12–15.
  69. Природні і штучні біоплато: фундаментальні та прикладні аспекти: / [Романенко В.Д., Крот Ю.Г., Киризія Т.Я. та ін.]; за ред.: Горбань Т.Л., Круківська А.В., Ін-т гідробіології НАН України. – Київ : Наук. думка, 2012. – 109 с.
  70. Ротмистров М.Н., Гвоздяк П.И., Ставская С.С. Микробиология очистки воды. – К.: Наук. думка, 1978. – 268 с.
  71. Руденко Л.М, Волкова А.А. Противомикробная активность, фармакологическое действие и токсичность пространственно-разветвленных производных фенола // Анналы Мечниковського інституту. – 2009. – № 3. – С. 26–29.
  72. Руссу А.Д. Оценка негативного воздействия гормоноподобных ксенобиотиков на природные микробоценозы. – Санкт-Петербург. – 2017. – 60 с.
  73. Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнений № 4630-88. – М.: Мин-во здравоохран. СССР, 1988. – 69 с.
  74. СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества.
  75. Севастьянов О.В. Исследование удаления анилина и фенольных соединений путем соокисления с помощью тирозиназы *Agaricus Bisporus* // Вісн. Одес. нац. ун. Сер.: Хімія. – 2012. – Т. 17(4). – С. 55–60.
  76. Серебренникова М.К. Биодegradация нефтяных углеводов иммобилизованными родококками в колоночном биореакторе // Дисс. канд. биол. наук. – Пермь, 2014. – 159 с.
  77. Серебряков Д.В., Морозов В.В. Обзор конструктивных особенностей блочно-модульных канализационных очистных сооружений малой производительности // Вода и экология. Проблемы и решение. – 2008. – № 1. – С. 47–59.
  78. Сингирцев И.Н. Микробная деструкция нитрофенолов // Автореферат дис. канд. биол. наук. 03.00.07 – микробиология, 1995. – 21 с.

79. Скрылев Л.Д., Сазонова В.Ф. Коллоидно-химические основы защиты окружающей среды от ионов тяжелых металлов. Ионная флотация. – К.: УМК ВО, 1992. – 215 с.
80. Скрябин Г.К., Головлева Л.А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. – М.: Наука, 1976. – 332 с.
81. Смольникова В.В., Емельянов С.А., Дементьев М.С. Воздействие углеводородов нефти на окружающую среду и способы очистки нефтезагрязненных субстратов // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2009. – Т. 11, № 1 (6). – С. 1378–1380.
82. Соловьев В.И., Кожанова Г.А., Гудзенко Т.В., Губанов В.В. Сорбенты и биопрепараты для ликвидации нефтяного загрязнения моря // Режим электронного доступа: <http://www.nexstonmarket.com/articles/read/1526>
83. Сопрунова О.Б., Утепешева А.А., Виет Тиен Нгуен. Микроорганизмы – деструкторы ПАВ в водных средах // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2013. – №1. – С. 83–90.
84. Справочник. Технологии восстановления почв, загрязненных нефтью нефтепродуктами // Stanislav Miertus, Гречищева Н.Ю., Мешеряков С.В., Рыбальский Н.Г., Барсов А.Р. – М.: РЭФИА и НИА, 2001. – 185 с.
85. Ставская С.С., Удод В.М., Таранова Л.А. Микробиологическая очистка воды от поверхностно-активных веществ. – Киев: Наук. думка, 1988. – 184 с.
86. Сучасні проблеми охорони довкілля, раціонального використання водних ресурсів та очистки природних і стічних вод : труди міжнар. наук.-практ. конф. (20-23 квіт. 2004 р., м. Миргород) / ред. : А. В. Гриценко ; Держ. ком. України по вод. госп-ву, Держ. ком. України з питань житл.-комун. госп-ва, Київ. нац. ун-т буд-ва і архіт. [та ін.]. – К., 2004. – 160 с.
87. Тимергазина И.Ф., Переходова Л.С. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами // Нефтегазовая геология. Теория и практика. – 2012. –Т.7. – №1. – [http://www.ngtp.ru/rub/7/16\\_2012.pdf](http://www.ngtp.ru/rub/7/16_2012.pdf)
88. Тихова А.А. Коллоидно-химические эффекты в процессе

- окислительной деструкции неионогенных поверхностно-активных веществ в водных растворах. – М: ФГАОУ ВПО Белгородский гос. ун-т, 2015. – 114 с.
89. Турковская О.В. Биологические и технологические аспекты микробной очистки сточных вод и природных объектов от поверхностно-активных веществ и нефтепродуктов: дис. ... д-ра. биол. наук. – Саратов, 2000. – 360 с.
90. Фатихова Н.И., Ягафарова Г.Г., Забиров Т.З., Даминев Р.Р. Сорбенты фенола и его соединений на основе водорослей // Сборник научных трудов II международной научно-технической конференции “Защита окружающей среды от экотоксикантов”. – Уфа, 23–24 апреля 2015 г. – С. 3–5.
91. Черкашин С.А., Блинова Н.К. Экспериментальные исследования токсичности фенола для ракообразных (обзор) // Гидробиологический журнал. – 2013. – Т. 49, №3. – С. 61–73.
92. Шандрович В.Т. Підвищення рівня екологічної безпеки шляхом удосконалення роботи міських очисних споруд... Дис. на здобуття наук. ступеню канд. техн. наук. Львів, 2015. – 178 с.
93. Швердяев О.Н., Белов П.С., Шкитов А.М. Поверхностно-активные вещества. Свойства, технология, применение, экологические проблемы / Под ред. П.С. Белова. – М.: Изд-во ВЗПИ, 1992. – 171 с.
94. Шенфельдт Н. Поверхностно-активные вещества на основе оксида этилена. – М.:Химия, 1982. – 749 с.
95. Шестеренко Ю.А., Артеменко А.Г., Полищук П.Г., Муратов Е.Н., Севастьянов О.В., Романовская И.И., Кузьмин В.Е., Андронати С.А. QSPR-анализ реакционной способности субстратов тирозиназы методом случайного леса // Доп. НАН України. – 2010. – № 5. – С. 181–186.
96. Шестеренко Ю.А. и др. Удаление фенолов из водных растворов с использованием иммобилизованной на полимерных носителях тирозиназы и неорганических коагулянтов // Химия и технология воды. – 2012. – Т. 34(2). – С. 179–186.
97. Шилина А.И. Моделирование физико-химического превращения бенз(а)перена в аэрозольной фазе // Миграция загрязняющих веществ в почвах и сопредельных средах.– Л.: Гидрометиздат, 1985. – С. 128–142.

98. Шинода К., Накагава Т., Тамамуси Б., Исемура Т. Коллоидные поверхностно-активные вещества. – М.: Мир, 1966. – 320 с.
99. Шкромада О.І. Визначення фенольного коефіцієнту та білкового індексу дезінфектанту Бідез // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина. – 2014. – Вип. 1. – С. 40–43.
100. Шумкова Е.С., Соляникова И.П., Плотникова Е.Г., Головлева Л.А. Разложение фенола штаммом *Rhodococcus opacus* 1G // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 1. – С. 51-57.
101. Юсибова Ю.М., Исак А.Д., Попов Е.В. Технология ПАВ на основе производных фенола // Вісник Східноукраїнського національного університету імені Володимира Даля. – 2014. – №9. – С. 186–190.
102. Abriola L.M., Dekker T.J., Pennell K.D. Surfactant-Enhanced Solubilization of Residual Dodecane in Soil Columns. 2. Mathematical Modeling // Environ. Sci. and Technol. – 1993. – Vol. 27. – P. 2341–2351.
103. Adeoya-Osiguwa S.A., Markoulaki S., Pocock V., Milligan S.R., Fraser L.R. 17beta-Estradiol and environmental estrogens significantly affect mammalian sperm function // Hum. Reprod. – 2003. – Vol. 18, №1. – P. 100–107.
104. Aida M. Farag, and other. Degradation of Phenol by A New-Degradable Marine Halophilic Fungus *Fennellia Flavipes* isolated from Mangrove Sediments // Life Science Journal. – 2014. – Vol. 11(9). – P. 836–845.
105. Analysis and fate of surfactants in the aquatic environment (Compr. Anal. Chem. XL) / Ed. Knepper T.P., Barcelo D., de Voogt P. // Elsevier Science, 2003. – 995 p.
106. Andreu V., Ferrer E., Rubio J.L., Font G., Picó Y. Quantitative determination of octylphenol, nonylphenol, alkylphenol ethoxylates and alcohol ethoxylates by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry in soils treated with sewage sludges // Sci. Total Environ. – 2007. – Vol. 378, №1–2. – P. 124–129.
107. Banerjee D.K., Fedorak P.M., Hashimoto A., Masliyah J.H.,

- Pickard M.A., Gray M.R. // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* – 1995. – Vol. 43. – P. 521–528.
108. Bergé A., Cladière M., Gasperi J., Coursimault A., Tassin B., Moilleron R. Meta-analysis of environmental contamination by alkylphenols (Review) // *Envir. Sci. Pollut. Res.* – 2012. – Vol. 19, №9. – P. 3798–3819.
109. Bevan C. L., Porter D. M., Prasad A., Howard M. J., Henderson L. P Environmental estrogens alter early development in *Xenopus laevis* // *Environ Health Perspect.* – 2003. – Vol. 111(4). – P. 488–496.
110. Bunting J.W., Katritzky A.R., Boulton A.J. Advances in heterocyclic chemistry // Ed by. – 1975. – Vol. 25, N.Y. – 467 p.
111. Butani Naresh, and other. Biodegradation of Phenol by a Bacterial Strain Isolated From a Phenol Contaminated Site in India // *Research Journal of Environment Sciences.* – 2012. – Vol. 1(1). – P. 46–49.
112. Cepoi L., Donțu N., Șalaru V. Removal of Organic Pollutants from Wastewater by Cyanobacteria // *Cyanobacteria for bioremediation of wastewaters.* – 2016. – P. 27–43.
113. Cerniglia C.E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. // *Biodegradation.* – 1992. – Vol. 3. – P. 351–368.
114. Cerniglia C.E., Heitkamp M.A., Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the aquatic environment, U. Varanasi, *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment.* CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1989. – P. 41–68.
115. Chakraborty B. Kinetic study of degradation of p-nitro phenol by a mixed bacterial culture and its constituent pure strains. // *Materialstoday: proceedings.* – 2016. – Vol. 3, №10. – P. 3505–3524.
116. Chena M., Tanga R., Fuc G. Association of exposure to phenols and idiopathic male infertility // *J. Hazard. Mater.* 2013. V. 250–251. P. 115–121.
117. Cincinelli A, Mandorlo S, Dickhut RM, Lepri L. Particulate organic compounds in the atmosphere surrounding an industrialised area of Prato (Italy) // *Atmos Environ.* – 2003. – №37. – P. 3125–3133.
118. Corvini P. F. X., Schäffer A., Schlosser D. Microbial degradation

- of nonylphenol and other alkylphenols-our evolving view // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2006. – Vol. 72, №2. – P. 223–243.
119. De Vries, Y. P., Takahara, Y., Ikunaga, Y. & 7 other authors. Organic nutrient-dependent degradation of branched nonylphenol by *Sphingomonas* sp. YT isolated from a river sediment sample // *Microbes Environ.* – 2001. – №16. – P. 240–249.
120. Dean-Ross D., Cerniglia C.E. Degradation of pyrene by *Mycobacterium flavescens* // *Appl Microbiol. and Biotechnol.* – 1996. – Vol. 46. – P. 307–312.
121. Ding W.-H., Tzing S.-H. Analysis of nonylphenol polyethoxylates and their degradation products in river water and sewage effluent by gas chromatography-ion trap (tandem) mass spectrometry with electron impact and chemical ionization // *J. Chromat. A.* – 1998. – Vol. 824, №1. – P. 79–90.
122. Dingyi Ye, M. Akmal Siddiqi, Alexander E. Maccubbin<sup>‡</sup>, Subodh Kumar, Harish C. Sikka. Degradation of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by *Sphingomonas paucimobilis* // *Environ. Sci. Technol.* – 1995. Appl № 30(1). – P. 136–142.
123. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. – Lyons, France: International Agency for Research on Cancer. Int. Agency for Research on Cancer, 2010. – 818 p.
124. Gao Q.T., Tam N.F.Y. Growth, photosynthesis and antioxidant responses of two microalgal species, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum*, to nonylphenol stress // *Chemosphere.* – 2011. – Vol. 82, №3. – P. 346–354.
125. González M.M., Martín J., Camacho-Muñoz D., Santos J.L., Aparicio I., Alonso E. Degradation and environmental risk of surfactants after the application of compost sludge to the soil // *Waste Manage.* – 2012. – Vol. 32, №7. – P. 1324–1331.
126. Grifoll M., Selifonov S.A., Gatlin C.V., Chapman P.J. Actions of a versatile fluorene-degrading bacterial isolate on polycyclic aromatic compounds // *Appl. and Environ. Microbiol.* – 1995. – Vol. 61. – P. 3711–3723.
127. Grosser R.J., Warshawsky D., Vestal J.R. Endogenous and enhanced mineralization of pyrene, benzo[a]pyrene, and carbazole in soils // *Appl Environ Microbiol.* – 1991. – Vol. 57. – P. 3462–3469.

128. 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. (ISBN: 978-613-8-25347- 1). – 2018. – 85 p.
129. He F., Obara A., Wang S., Wang L. Behavior and distribution of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in sediments of Nansi Lake, China(Conference Paper) // Adv. Mater. Res. – 2012. – Vol. 356-360. - P. 1733-1738.
130. Heitkamp M A, Cerniglia C E. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterium isolated from sediment below an oil field // Appl Environ Microbiol. – 1988. – Vol. 54. – P. 1612–1614.
131. Heitkamp M A, Cerniglia C E. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a Mycobacterium sp. in microcosms containing sediment and water from a pristine ecosystem // Appl Environ Microbiol. – 1989. – Vol. 55. – P. 1968–1973.
132. Heitkamp M A, Franklin W, Cerniglia C E. Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: isolation and characterization of a pyrene-degrading bacterium // Appl Environ Microbiol. – 1988. – Vol. 54. – P. 2549–2555.
133. Hohzoh Kiyohara, Kazutaka Nagao, Ryosaku Nomi. Degradation of Phenanthrene through o-Phthalate by an Aeromonas sp. // Agr. Bioi. Chem. – 1976. – Vol. 40, №6. – P. 1075-1082. - <https://doi.org/10.1080/00021369.1976.10862190>.
134. <http://biofile.ru/bio/17011.html>
135. <http://enc-dic.com/vet/Diocid-590.html>
136. <https://delfin.one/stochnye-vody/>
137. <https://acs-nnov.ru/biologicgeskayu-ocgistka-stocgnich-vod.html>
138. <https://ua.thpanorama.com/articles/biologa/biorremediacion-caractersticas-tipos-ventajas-y-desventajas.html>
139. <https://ziko.com.ua/ochischennya-promislovih-stokiv-article-ochyshchennya-promyslovykh-stokiv/>
140. <https://ziko.com.ua/organization-solution-biolohichne-ochyshchennya-stichnykh-vod/>

141. <https://acs-nnov.ru/aktivnyj-il-v-ochistnyh-sooruzheniyah.html>
142. <http://ecopro.nuft.edu.ua/images/summer/ppt/2/day2/pdf/luk.pdf>
143. <http://mastrekon.ru/wp-content/uploads/2013/10/metantenk1.jpg>
144. <http://septikland.ru/septiki/shema-septika.html>
145. <https://smetdlysmet.ru/gesn-v-kartinkah/gesn-06/metantenki.html>
146. <https://present5.com/biopolyonki-lekciya-3-process-formirovaniya-biopolyonki-stadii/>
147. <http://vse-o-vode.ru/technology/biofiltry-dlya-ochistki-stochnyx-vod/>
148. Jasperien P.A. de Weert J.P.A. Fate of the estrogen nonylphenol in river sediment: availability, mass transfer and biodegradation / Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor. - Wageningen, the Netherlands, 2009. – 76 p.
149. Jayachandran V.P., Kunhi A.A.M. Degradation of 3-chlorobenzoate and phenol singly and in mixture by a mixed culture of two ortho-pathway-following *Pseudomonas* strains // *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. – 2009. – Vol. 36, №2. – P. 219–227.
150. Jobling S., Nolan M., Tyler C.R., Brighty G., Sumpter J.P. Widespread Sexual Disruption in Wild Fish // *Environ. Sci. Technol.* – 1998. – Vol. 32, №17. – P. 2498–2506.
151. Jonkers N., Laane R.W.P.M., De Voogt P. Sources and fate of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in the Dutch coastal zone of the North Sea // *Mar. Chem.* – 2005. – Vol. 96, №1. – P. 115–135.
152. Kästner M, Mahro B. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 1996. – Vol. 44. – P. 668–675.
153. Kelley I, Cerniglia C E. Degradation of a mixture of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a *Mycobacterium* strain PYR-1 // *J Soil Contam.* – 1995. – Vol. 4. – P. 44–91.
154. Khan AA, Wang R-F, Cao W-W, Franklin W, Cerniglia CE. Reclassification of a polycyclic aromatic hydrocarbon-

- metabolizing bacterium, *beijerinckia* sp. strain B1, as *sphingomonas yanoikuyae* by fatty acid analysis, protein pattern analysis, DNA-DNA hybridization, and 16S ribosomal DNA sequencing // *Int J Syst Bacteriol.* – 1996. – Vol. 46. – P. 466–469.
155. Krupinski M., Szewczyk R., Dlugonski J. Detoxification of xenoestrogen nonylphenol by the filamentous fungus *Aspergillus versicolor* // *International Biodeterioration and Biodegradation.* – 2013. – Vol. 82. – P. 59–66.
156. Kuzikova I., Safronova V., Zaytseva T., Medvedeva N. Fate and effects of nonylphenol in the filamentous fungus *Penicillium expansum* isolated from the bottom sediments of the Gulf of Finland // *Journal of Marine Systems.* 2017. – Vol. 171. – P. 111–119.
157. Lack A., Fuches G. Evidence that phenol phosphorylation to phenylphosphate is the first step in anaerobic phenol metabolism in a denitrifying *Pseudomonas* sp. *Arch. Microbiol.* – 1994. – Vol. 161. – P. 132–139.
158. Lara-Martín P.A., Gómez-Parra A., González-Mazo E. Development of a method for the simultaneous analysis of anionic and non-ionic surfactants and their carboxylated metabolites in environmental samples by mixed-mode liquid chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2006. – Vol. 1137, №2. – P. 188–197.
159. Lara-Martín P.A., González-Mazo E., Brownawell B.J. Environmental analysis of alcohol ethoxylates and nonylphenol ethoxylate metabolites by ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (Conference Paper) // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2012. – Vol. 402, №7. – P. 2359–2368.
160. Liu Y., Dai X., Wei J. Toxicity of the nonylphenol and its biodegradation by the alga *Cyclotella caspia* // *J. of Environmental Science.* – 2013. – № 25(8). – P. 1662–1671.
161. Mahaffey W.R., Gibson D.T., Cerniglia C.E Bacterial oxidation of chemical carcinogens: formation of polycyclic aromatic acids from benz[a]anthracene // *Appl. and Environ. Microbiol.* – 1988. – Vol. 54. – P. 2415–2423.
162. Mastrangelo, G., Fadda, E. and Marzia, V. Polycyclic aromatic hydrocarbons and cancer in man. *Environ. Health. Perspect.* –

1996. –№104. – P. 1166–1170.
163. Medvedeva N., Zaytseva T., Kuzikova I. Cellular responses and bioremoval of nonylphenol by the bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix agardhii* 1113// *Journal of Marine Systems*. 2017. – Vol. 171. – P. 120-128.
164. Milinovic J. Interaction of alkylphenolic and perfluorinated compounds with sewage sludges and soils. Tesi Doctoral. – Barcelona, Abril: Universitat de Barcelona, 2014 – 213 p.
165. Mueller J.G., Chapman P.J., Blattmann B.O., Pritchard P.H., Isolation and characterisation of a fluoranthene-utilizing strains of *Pseudomonas paucimobilis* // *Appl. Environ. and Microbiol.* – 1990. – Vol. 56. – P. 1079–1086.
166. Mueller J.G., Chapman P.J., Pritchard P.H. Action of a fluoranthene-utilizing bacterial community on polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1989. – Vol. 55. – P. 323–342.
167. Naylor C.G. Environmental fate and safety of nonylphenol ethoxylates // *Text. Chem. Color.* – 1995. – Vol. 27. – P. 29–33.
168. Nie M., Nie H., Cao W., Wang X., Guo Y., Tian X., Yin X., Wang Y. Phenanthrene Metabolites from a New Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacterium *Aeromonas salmonicida* subsp. *Achromogenes* strain NY4 // *Polycyclic aromatic compounds.* – 2016. – Vol. 36, №2. – P. 132–151.
169. Ortega-Calvo J J, Alexander M. Roles of bacterial attachment and spontaneous partitioning in the biodegradation of naphthalene initially present in nonaqueous-phase liquids // *Appl Environ Microbiol.* – 1994. – Vol. 60. – P. 2643–2646.
170. Ortega-Calvo J.-J., Saiz-Jimenez C. Effect of humic fractions and clay on biodegradation of phenanthrene by a *Pseudomonas fluorescens* strain isolated from soil // *Appl. And Environ. Microbiol.* – 1998. – № 64. – P. 2387–2392.
171. Park Y.-J., Mohamed E.A., Kwon W.S., You Y.A., Ryu B.Y., Pang M.J. Xenoestrogenic chemicals effectively alter sperm functional behavior in mice // *Reprod. Toxicol.* – 2011. – Vol. 32, №4. – P. 418–424.
172. Rehmann K, Noll H P, Steinberg C E W, Kettrup A A. Pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. strain KR2. *Chemosphere.* –

1998. – Vol. 36. – P. 2977–2992.
173. Richnow H.H., Seifert R., Hefter J., Köstner M., Mahro B., Michaelis W. Metabolites of xenobiotica and mineral oil constituents linked to macromolecular organic matter in polluted environments. // *Org. Geochem.* – 1994. – Vol. 22. – P. 671–681.
174. Richnow, H.H., Annweiler, E., Fritsche, W., Kästner, M.: Organic pollutants associated with macromolecular soil organic matter and the formation of bound residues In: Baveye, P., Block, J.C., Gonscharuk, V.V., (eds.) *Bioavailability of organic xenobiotics in the environment - practical consequences for the environment. Proceedings of the NATO Advanced Study Institute on Bioavailability of Organic Xenobiotics in the Environment, Prague, Czech Republic, 18–29 August 1997* Kluwer, Dordrecht. – P. 297–326.
175. Risk assessment methodologies and approaches for mutagenic and carcinogenic substances (Preliminary report agreed by written procedure by SCHER, SCCP and SCENIHR on 24 October 2008) [Electronic resource] – [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scher/docs/scher\\_o\\_107.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scher/docs/scher_o_107.pdf)
176. Schantz S.L., Widholm J.J. Cognitive effects of endocrine-disrupting chemicals in animals // *Environ. Health Perspect.* – 2001. – Vol. 109, №12. – P. 1197–1206.
177. Schneider J, Grosser R, Jayasimhulu K, Xue W, Warshawsky D. Degradation of pyrene, benz[a]anthracene and benzo[a]pyrene by *Mycobacterium* sp. strain RJGII-135, isolated from a former coal gasification site. *Appl Environ Microbiol.* – 1996. – Vol 62. – P. 13–19.
178. Schocken M.J., Gibson D.T. Bacterial oxidation of the polycyclic aromatic hydrocarbons acenaphthene and acenaphthylene // *Appl. and Environ. Microbiol.* – 1984. – Vol. 48. – P. 10–16.
179. Shailu Dalal, Pandey R.R., Dubey R.C. Bacterial Degradation of Phenol and Cyanide from Industrial Wasterwater // *Bioremediation of Pollutants.* – 2014. – P. 1– 24.
180. Shang DY, Macdonald RW, Ikonomou MG. Persistence of nonylphenol ethoxylate surfactants and their primary degradation products in sediments from near a municipal outfall in the strait of Georgia, British Columbia, Canada // *Environ Sci Technol.* –

1999. – № 33. – P. 1366–72.
181. Soares A., Guieysse B., Jefferson B., Cartmell E., Lester J.N. Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters // *Environment International*. – 2008. – Vol. 34, №7. – P. 1033–1049.
182. Substances classified as carcinogenic, mutagenic and toxic for reproduction (CMR) and other substances of concern in consumer products/ Summary - Dessau-Roßlau, April 2011 – <https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/461/publikationen/4092-0.pdf>
183. Supriya Mrs.Ch. Biodegradation of phenol by *Aspergillus niger* // *J. of Pharmacy*. – 2014. – № 4 (7). – P. 11–17.
184. Uguz C., Işcan M., Togan İ. Alkylphenols in the Environment and Their Adverse Effects on Living Organisms // *Kocatepe Vet J.* – 2009. – Vol. 2(1). – P. 49–58.
185. Vazquez-Duhalt R., Marquez-Rocha F., Ponce E., Licea A. F., Viana M.T. Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. Scientific Review // *Applied Ecology and Environmental Research*. – 2005. – Vol. 4. – P. 1–25.
186. Weissenfels W.D., Beyer M., Klein J. Degradation of phenanthrene, fluorene and fluoranthene by pure bacterial cultures // *Appl. and Microbiol. Biotechnol.* – 1990. – Vol. 32. – P. 479–484.
187. Willumsen P.A., Karlson U. Screening of bacteria, isolated from PAH contaminated soils, for production of biosurfactants and bioemulsifiers. // *Biodegradation*. – 1997. – Vol. 7. – P. 415–423.
188. Woo S.H., Park J.M., Rittmann B.E. Evaluation of the interaction between biodegradation and sorption of phenanthrene in soil-slurry systems // *Biotechnol. and Bioeng.* – 2001. – Vol. 73. – P. 12–24.
189. [www.OpenGost.ru](http://www.OpenGost.ru) Методические указания МУК 4.1.1956-05. 4.1. Методы контроля. Химические факторы. Определение концентрации нефти в почве методом инфракрасной спектрофотометрии
190. Zaytseva T.B., Medvedeva N.G., Mamontova V.N. Peculiarities of the effect of octyl- and nonylphenols on the growth and development of microalgae // *Inland Water Biology*. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 406–413.

*Наукове видання*

***Автори:***

**Гудзенко** Тетяна Василівна  
**Іваниця** Володимир Олексійович  
**Галкін** Борис Миколайович  
**Волювач** Ольга Вячеславівна  
**Горшкова** Олена Георгіївна

# **Мікробіологічні методи очищення стічних вод від органічних забруднювачів**

Монографія

*Верстка – С. Остапенко*

Підп. до друку 28.11.2019. Формат 60x84/16.  
Ум.-друк. арк. 7,5. Тираж 100 пр.  
Зам. № 2017

Видавець та виготовлювач  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.  
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна  
Тел.: +38 (048) 723 28 39