УДК 656(1-21):629.3. 504; 504.75; 574. 656.

КП_____

№ держреєстрації 0120U104788

Інв. №_____


Міністерство освіти і науки України

Національний авіаційний університет

03680, м. Київ, пр. Любомира Гузара, офіс 1.402, тел. (044) 408-84-00


| | |
|---|---|
| "УЗГОДЖУЮ" | "ЗАТВЕРДЖУЮ" |
| **Директор УкрНДНЦ хіммотології і сертифікації ПММ і ТР, керівник НДР** | **Проректор НАУ з наукової роботи** |
| **_____Ірина ШКІЛЬНЮК** | **_____Євген РОМАНЕНКО** |
| **" 08 " грудня 2021 р.** | **" " грудня 2021 р.** |

# НАУКОВИЙ ЗВІТ ПРО РЕЗУЛЬТАТИ РЕАЛІЗАЦІЇ ПРОЄКТУ

2020.01/0242

(реєстраційний номер проєкту)

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-АНАЛІТИЧНІ ЗАСАДИ ГАРАНТУВАННЯ БЕЗПЕКИ ЛЮДИНИ ТА СУСПІЛЬСТВА УДОСКОНАЛЕННЯМ ТЕХНОЛОГІЙ ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ У ТЕХНОСФЕРІ**

(найменування НДР)

за Договором про виконання наукового дослідження і розробки за рахунок грантової підтримки

Національного фонду досліджень Україниу у рамках грантового конкурсу

**«Наука для безпеки людини та суспільства»**

за договором №193/01/0242 від 18 травня 2021 р.

**Заключний**

Відповідальний виконавець _____ І. Л. Трофімов

(підпис)

2021

*Рукопис закінчено 26 серпня 2021 року*

*Результат роботи розглянуто науково-технічною радою Національного авіаційного університету, протокол від 08 грудня 2021 р., №*

## СПИСОК АВТОРІВ

| | | | |
|---|---|---|---|
| Науковий керівник до 09.2021: д-р техн. наук, професор | (підпис) | 08.12.2021 (дата) | С. В. Бойченко (формування звіту, реферат, розділ 1, 2). |
| Науковий керівник з 09.2021, наук. співроб. | (підпис) | 08.12.2021 (дата) | І. О. Шкільнюк (розділ 3, 4, 5, висновки). |
| Відповідальний виконавець: старш. наук. співроб. | (підпис) | 08.12.2021 (дата) | І. Л. Трофімов (формування звіту, розділ 1 2, 3, 7 висновки). |
| Інші виконавці: старш. наук. співроб. | (підпис) | 08.12.2021 (дата) | С. Й. Шаманський (розділ 6). |
| наук. співроб. | (підпис) | 08.12.2021 (дата) | А. В. Яковлєва (розділ 5). |
| старш. наук. співроб. | (підпис) | 08.12.2021 (дата) | Ю. І. Великодський (розділ 1). |
| мол. наук. співроб. | (підпис) | 08.12.2021 (дата) | Н. Н. Зелена (розділ 3, 4). |

# РЕФЕРАТ

Заключний звіт з НДР: 173 с., 20 табл., 50 рис., 105 джерел.

**Предмет дослідження** – здатність мікроорганізмів, ізольованих із звалищ транспортної інфраструктури м. Київ, до біодеструкції паливно-мастильних матеріалів та харчових відходів.

**Мета роботи** – удосконалення класифікації морфології, технологій та системи поводження з відходами транспортної інфраструктури техносфери.

**Методи дослідження:** монографічний, аналітичні методи, стандартні мікробіологічні та дослідження фізико-хімічних і експлуатаційних властивостей гасу та дизельного палива.

**Виконано основні завдання проєкту**:

- проведено таксономічний аналіз грибів, ізольованих зі звалищ транспортної інфраструктури м. Києва;

- проведено порівняльну характеристику впливу фізико-хімічних властивостей паливно-мастильних матеріалів на життєдіяльність мікроорганізмів-деструкторів;

- досліджено здатність комплексу мікроорганізмів, ізольованих з міського звалища міста Києва до деструкції/деградації дизельного палива та гасу;

- досліджено механізм інтенсифікації деградації дизельного палива та гасу за різних температур;

- досліджено здатність мікроводоростей поглинати біогенні елементи зі стічних вод;

- проведено оцінку біотехнологічного потенціалу мікроорганізмів, ізольованих з міського звалища міста Києва, щодо знешкодження нафтопродуктів та твердих органічних відходів. Підготовлено відповідну аналітичну записку;

- розроблено алгоритм та методику виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування;

- розроблено методику утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів та твердих органічних (харчових) відходів з використанням ізольованих з проб, відібраних на сміттєзвалищах транспортної інфраструктури.

- підготовлено аналітичну довідку до Кабінету Міністрів України про стан, законодавчу та нормативну базу, морфологію, систему поводження з відходами транспортного сектору економіки у світі та в Україні;

- підготовлено аналітичну записку до Кабінету Міністрів України «Оцінка стану біологічної безпеки у транспортній інфраструктурі техносфери та біотехнологічного потенціалу мікроорганізмів з метою знешкодження рідких і твердих органічних відходів»;

- запропоновано класифікацію морфології відходів транспорту;

- розроблено електронний глосарій основних термінів і понять;

- розроблено електронну освітньо-популяризаційну платформу про систему поводження з відходами у техносфері;

- розроблено практичні рекомендації щодо комплексу заходів з метою утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів (ПММ) (відпрацьованої моторної оливи, густих осадів дизельного пального, гасу) та твердих органічних (харчових) відходів в умовах різних температур;

- розроблено проєкт ДСТУ «Екологістика, утилізація та рециклінг. Техносфера. Транспорт. Інфраструктура»;

- розроблено проєкт ДСТУ «Визначення мікробіологічного ураження експлуатаційних матеріалів авіаційної техніки»;

- розроблено проєкт технологічної схеми утилізації відходів ПММ (відпрацьованої моторної оливи, густих осадів дизельного пального, гасу) та твердих органічних (харчових) відходів;

- розроблено проєкт технологічної схеми очищення стічних вод від біогенних елементів за допомогою мікроводоростей;

- підготовлено монографію «Експериментально-аналітичне обґрунтування забезпечення мікробіологічної стабільності моторних і ракетних палив»;

- підготовлено електронний підручник «Технології захисту людини у техносфері. Екологістика у транспортній інфраструктурі» та його видання.

ЗВАЛИЩА, КОМПЛЕКС МІКРООРГАНІЗМІВ, ДЕСТРУКТОРИ, ДИЗЕЛЬНЕ ПАЛИВО, ГАС, ТЕХНОСФЕРА, ТРАНСПОРТНА ІНФРАСТРУКТУРА, ВІДХОДИ.

## ABSTRACT

Industrial education from NDR: 173 p., 20 tab., 50 fig., 105 lit. sourses.

**The subject of advancement** is the building of microorganisms, isolated and transport infrastructure in Kiev, to biodestructive fire-mastic materials and food inputs.

**Purpose** - the detailed classification of morphology, technology and communication systems with the entrances of the transport infrastructure of the technosphere.

**Methods of advancement**: monographic, analytical methods, standard microbial and advanced physical, chemical and operational powers of gas firing and diesel firing.

**Reached main project 1-st stage vikonannya project**:

- taxonomic analysis of fungi isolated from landfills of transport infrastructure of Kyiv was carried out;

- the comparative characteristic of influence of physical and chemical properties of fuels and lubricants on vital activity of microorganisms-destructors is carried out;

- the ability of a complex of microorganisms isolated from the city landfill of the city of Kyiv to destruction / degradation of diesel fuel and kerosene was studied;

- the mechanism of intensification of degradation of diesel fuel and kerosene at different temperatures is investigated;

- the ability of microalgae to absorb nutrients from wastewater was studied;

- assessment of the biotechnological potential of microorganisms isolated from the city landfill of Kyiv for the disposal of petroleum products and solid organic waste. An appropriate analytical note has been prepared;

- an algorithm and method for isolating the complex and pure cultures of microorganisms capable of destruction / degradation of hydrocarbons, petroleum products (diesel fuel, kerosene) and food has been developed;

- a method of utilization of waste fuels and lubricants and solid organic (food) waste using isolated from samples taken at landfills of transport infrastructure has been developed;

- an analytical report to the Cabinet of Ministers of Ukraine on the state, legislative and regulatory framework, morphology, waste management system of the transport sector of the economy in the world and in Ukraine has been prepared;

- an analytical note to the Cabinet of Ministers of Ukraine "Assessment of the state of biological safety in the transport infrastructure of the technosphere and the biotechnological potential of microorganisms to neutralize liquid and solid organic waste" has been prepared;

- classification of morphology of transport wastes is offered;

- an electronic glossary of basic terms and concepts has been developed;

- an electronic educational and promotional platform on the waste management system in the technosphere has been developed;

- practical recommendations for a set of measures to dispose of waste fuels and lubricants (fuel) (spent engine oil, thick sediments of diesel fuel, kerosene) and solid organic (food) waste at different temperatures has been developed;

- the project of DSTU “Ecology, utilization and recycling. Technosphere. Transport. Infrastructure" has been developed;

- the project DSTU "Determination of microbiological damage of operational materials of aviation equipment" has been developed;

- the project of the technological scheme of utilization of waste of fuel and lubricants (the fulfilled motor oil, thick deposits of diesel fuel, kerosene) and solid organic (food) wastes has been developed.

- the project of the technological scheme of sewage treatment from nutrients by means of microalgae has been developed;

- a monograph "Experimental and analytical justification for microbiological stability of motor and rocket fuels" has been prepared;

- prepared an electronic textbook "Technologies for human protection in the technosphere. Ecology in transport infrastructure "and its publication.

LANDFILLS, MICROORGANISMS COMPLEX, DESTRUKTOR, DIESEL FUEL, JET FUEL, TECHNOSPHERE, INFRASTRUCTURE OF TRANSPORT, WASTE

# ЗМІСТ

**Перелік скорочень, умовних познак, одиниць і термінів…….** 9

**Вступ**……..... 10

**1. Розділ. Екологічні проблеми сміттєзвалищ в Україні……** 11

**Розділ 2. Екологічні проблеми відходів транспортної інфраструктури……..** 21

2.1. Забруднення продуктами зношування транспортних засобів……. 22

2.2. Морфологічний склад відходів транспортних засобів……. 29

2.3. Інвентаризація звалищ м. Києва та Київської області, що містять відходи транспортної інфраструктури……. 35

**Розділ 3. Аналіз комплексу мікроорганізмів, ізольованих з звалищ транспортної інфраструктури** ……. 52

3.1. Матеріали та методи досліджень……. 52

3.2. Комплекс мікроорганізмів, ізольованих з звалищ транспортної інфраструктури…….. 57

**Розділ 4. Дослідження здатності комплексу мікроорганізмів, ізольованих із звалища транспортної інфраструктури міста Києва до деструкції вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування ……** 63

4.1. Вплив фізико-хімічних властивостей паливно-мастильних матеріалів на життєдіяльність мікроорганізмів-деструкторів…… 63

4.2. Дослідження здатності комплексу мікроорганізмів, ізольованих із звалища транспортної інфраструктури міста Києва до деструкції гасу та дизельного палива…….. 69

4.3. Алгоритм та методика виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування..... 98

4.4. Виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування із проб звалищ транспортної інфраструктури м. Києва……. 106

**Розділ 5. Дослідження механізму інтенсифікації деградації дизельного палива та гасу за різних температур……** 119

**Розділ 6. Дослідження здатності мікроводоростей поглинати біогенні елементи зі стічних вод……..** 123

6.1. Оцінювання біотехнологічного потенціалу мікроводоростей для очищення стічних вод ……... 123

6.2. Дослідження процесів доочищення стічних вод від біогенних елементів з використанням біоконверсії…… 126

6.3. Дослідження здатності мікроводоростей поглинати біогенні елементи зі стічних вод……... 133

6.4. Дослідження ефективності видалення біогенних елементів у фотобіореакторі.. 138

6.5. Опис технологічної схеми очищення стічних вод від біогенних елементів за допомогою мікроводоростей…….. 146

**Розділ 7. Розробка технології утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів та твердих органічних (харчових) відходів з використанням мікроорганізмів ізольованих із звалищ ТІ м. Києва.**..... 150

7.1. Огляд методів утилізації органічних відходів……. 150

7.2. Опис технологічної схеми утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів та твердих органічних (харчових) відходів з використанням ізольованих проб, відібраних на сміттєзвалищах органічних відходів з одночасною біоремедіацією полігонів відходів транспортної інфраструктури…….. 152

**Загальні висновки……..…** 156

**Публікації та апробації результатів роботи командою проєкту……** 162

**Список використаних джерел……** 165

## Перелік скорочень, умовних позначень, одиниць і термінів

ТПВ – тверді побутові відходи;

ВОЗ – Всесвітня організація здоров’я;

ГДК – гранично допустима концентрація;

ГДВ – гранично допустимий викид;

ЗР – забруднююча речовина;

НПС – навколишнє природне середовище;

НС – надзвичайна ситуація;

ПММ – паливно-мастильні матеріали;

РК – ракетні палива

ОБРВ – орієнтовно безпечний рівень впливу;

ВМ – важкі метали.

## Вступ

Робота виконується згідно з календарним планом наукових досліджень і розробок за проєктом № 2020.01/0242.

Проблема із відходами стоїть перед людством з того самого часу, як воно з'явилося на землі, і з часом вона стає все серйознішою.

На сьогодні в Україні проблема сміттєзвалищ − одна з найважливіших і найактуальніших серед проблем забруднення навколишнього середовища. Це питання потребує негайного вирішення не тільки в Україні, а й у всьому світі. У кожному людському помешканні утворюється величезна кількість непотрібних матеріалів та виробів, починаючи від старих газет та журналів, порожніх консервних банок, пляшок, харчових відходів, обгорток та упаковок, закінчуючи битим посудом, зношеним одягом та поламаною побутовою чи офісною технікою. Кожного дня ми змушені стикатися з відходами: вдома, на вулиці. Всюди нас оточують папірці, обгортки з пластика, скло, поліетиленове пакування, ПЕТ-пляшки та ін.

Із розростанням міст та збільшенням кількості промислових підприємств збільшується кількість відходів. Промислові і побутові відходи створюють безліч проблем забруднення навколишнього середовища, а також транспортування, зберігання, утилізації та ліквідації.

Сміття утворюється і накопичується не лише у житлових приміщеннях, а також у офісах, адміністративних спорудах, розважальних закладах, магазинах, дитячих садках, школах, інститутах, поліклініках та лікарнях, готелях, на вокзалах, ринках чи просто на вулицях.

Транспортна галузь здійснює велике екологічне навантаження на довкілля. Специфіка роботи суб'єктів господарювання, що здійснюють діяльність із надання послуг транспорту або мають на балансі чи експлуатують транспорт, передбачає утворення відповідних відходів.

Накопичення сміття порушує один з основних екологічних законів, а саме сталого кругообігу речовин у природі. Адже, вилучаючи з природи чимало

речовин, людина змінює їх до невпізнанності та повертає до природи у вигляді сміття, яке не розкладається на вихідні речовини природнім шляхом.

За кількістю побутових відходів Україна не відстає від середньоєвропейського показника. Щороку накопичується близько 10 млн тонн сміття. За прогнозами як закордонних, так і вітчизняних фахівців, екологічна ситуація в Україні, наближається до критичної, адже переробкою відходів у нас займаються на дуже низькому рівні. Офіційні дані Міністерства розвитку громад та територій України – 5,5 тисяч офіційних сміттєзвалищ площею 8500 га. Відсутність регулювання та недотримання законодавства у цій сфері створює небезпеку розростання санкціонованих та стихійних сміттєзвалищ, що призводить до негативних впливів на довкілля та біорізноманіття, тощо.

## Розділ 1. Екологічні проблеми сміттєзвалищ в Україні

Звалище − спеціально обладнане місце для поховання промислових і побутових відходів [1].

Сміттєвий полігон, обладнаний за всіма міжнародними стандартами безпечний для суспільства. Він повинен виглядати наступним чином. Полігони споруджуються за спеціальною технологією, з урахуванням певних вимог, норм і стандартів. Отже, полігон являє собою поглиблення в ґрунті, дно і стіни якого покриті спеціальною основою. Як основа може служити міцна поліетиленова плівка, або залізобетон. Поверх основи висипається шар подрібнених відходів, що вирівнюється спеціальним катком, пресується, засипається землею або піском і знову закривається шаром плівки або залізобетонного покриття [1]. Під нижнім шаром основи знаходиться спеціальний резервуар, в якому накопичується рідина, що утворюється в процесі фільтрації. У міру заповнення резервуара, рідина вивозиться з метою подальшої переробки. Після заповнення полігону, поверх останнього шару плівки насипається пісок або глина, для створення природного ґрунту, що згодом засівається рослинами. Перед відправкою на полігон сміття

підлягає сортуванню. Упорядковано вони в залежності від складу (пластик, скло, папір і т.д.) [3].

Поводження з відходами в Україні - катастрофа. Враховуючи дані [1, 5], за 2019 рік в Україні було утворено майже 54 млн $м^2$ побутових відходів, а це – понад 9 млн тонн. Це сміття підлягає захороненню на 5,5 тисячах звалищ і полігонів, загальна площа яких – до 9 тис. га. Більше 160 тис. га землі, що можна було б використовувати для сільськогосподарських потреб, передані під полігони для сміття.

В Україні налічується 256 перевантажених полігонів, а 1347 звалищ не відповідають нормам екологічної безпеки (рис 1.1). При цьому щороку в країні виникає близько 12 тис. незаконних сміттєзвалищ, так як існуючих на сьогоднішній день підконтрольних полігонів недостатньо [6].

Рис. 1.1. Сміттєзвалища України

За своїм складом ТПВ багатокомпонентні, полігони приймають найрізноманітніші види відходів з багатьох джерел. Це сміття житлового сектору, соціальної сфери, всіляких установ і підприємств. Загалом, все те, що не підлягає

переробці і не може експлуатуватися повторно. А це в нашій країні − більша частина всіх відходів.

У сотнях тонн цього гниючого на полігонах сміття зустрічається різне: харчові відходи, макулатура, деревина, чорні і кольорові метали, шкіра, інші органічні залишки, гума, текстиль, скло, всілякі види пластмаси, побутові прилади. А також те, що несе особливу небезпеку: ртутні солі з батарей і градусників, карбонати фосфору з флуоресцентних ламп, токсичні речовини, що містяться у фарбах, лаках, розчинниках, аерозолях, акумуляторах, продуктах фармацевтики. Багаторічної шкоди навколишньому середовищу завдає будівельне сміття: цемент, ацетон, покриття, металовмісна продукція.

Відповідно до міжнародних стандартів, тверді відходи побутового та промислового походження підлягають обов'язковій утилізації. Знищення повинно здійснюватися на спеціально обладнаних полігонах.

Ні збір, ні зберігання ТПВ в Україні не відповідають вимогам санітарних і законодавчих норм, не контролюються належним чином відповідними службами. Основним методом утилізації в Україні є поховання відходів на полігонах ТПВ, тобто – на звалищах.

На законодавчому рівні використання полігонів в нашій країні регулюють:

- Державні будівельні норми України (ДБН В.2.4-2-2005);
- Закон України «Про відходи»;
- Наказ «Про затвердження правил експлуатації полігонів побутових відходів».

Згідно вищевказаних нормативних документів розміщення полігонів ТПВ повинно бути здійснене на висоті мінімум два метри над ґрунтовими водами, на відстані не менше 50 метрів від меж лісів і лісосмуг. Крім того, заборонено розташовувати сміттєві полігони менш, ніж за 200 метрів від сільськогосподарських угідь, загальних мереж і доріг (в тому числі залізничних колій). Від житлових і громадських забудов полігони повинні відокремлювати півкілометра, від меж міст – 1000 метрів, від меж міст-курортників, відкритих водойм господарського призначення, об'єктів, що використовуються з культурно-

оздоровчою метою, заповідників, і морського узбережжя – 3 км. А між полігоном і аеропортом має бути 15 км.

Розташування полігону може бути у різних місцинах. Як правило, він розділяється на дві зони: сектор розвантаження сміття і зону його складування.

Полігони мають бути огороджені захисними лісосмугами і обладнані спеціальними сітками і екранами. Останні не допускають поширення біогазу, що утворюється в результаті метанового і водневого бродіння (рис.1.2).

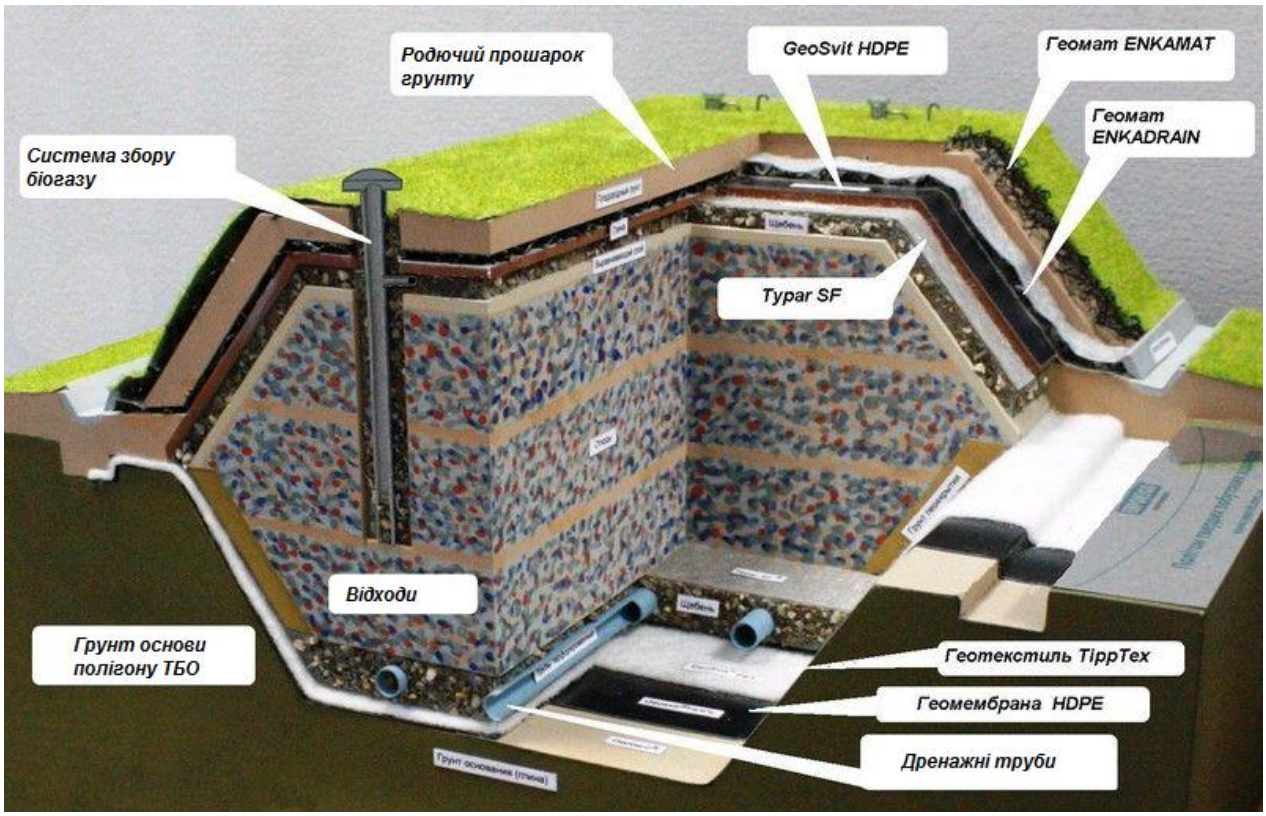



Рис .1.2. Організація полігону ТПВ [5].

Отже, полігон повинен бути організований так, щоб протягом всіх 20 років функціонування на ньому було забезпечено запобігання негативного впливу процесу розкладання відходів на навколишнє середовище та здоров’я людей.

По всій Україні налічується близько 6700 контрольованих полігонів. Ця цифра незначна в порівнянні з кількістю незаконних сміттєзвалищ. Найбільші полігони зхаходяться: на Київщині, Харкові, Краматорсьску, Дніпрі, Донецьку, Миколаїві, Кам'янець-Подільську, Ужгороді, Тернополі, Львові Одесі, село Глибоке, село Ладижинське (рис.1.3).

Рис. 1.3. Найбільші сміттєзвалища в Україні [7]

При цьому велика частина полігонів знаходиться в критичній ситуації. Повністю безпечних полігонів в Україні майже не існує. Навіть побудовані за всіма будівельними нормами полігони мають багато ризиків щодо негативного впливу на довкілля. Наприклад, через рух ґрунтових мас сміттєвий фільтрат потрапляє в ґрунт, питну воду. Крім того, практично на всіх полігонах час від часу стаються пожежі. У той же час на сміттєспалювальних заводах діє 7–8 ступенів очистки газів, контролюється кількість викидів в атмосферу. На звалищах це складно відстежити [8].

В Україні як вторинні ресурси використовується лише близько 5% твердих побутових відходів – решта вивозиться на полігони. Для порівняння, в Швеції переробляється майже 100% всіх відходів. Усі відходи поділяються на:

- побутові, що утворюються в результаті життєдіяльності людей;

- промислові, що утворюються при виробництві продукту або виконанні робіт, під час яких вони втратили свої споживні якості;

- сільськогосподарські, що утворені в сільськогосподарському виробництві;

- будівельні (відходи в процесі будівництва споруд, виробництва будівельних матеріалів);

- радіоактивні (невикористані радіоактивні речовини і матеріали, що утворюються при роботі ядерних реакторів, при виробництві та використанні радіоактивних ізотопів).

Кількість відходів та їх склад залежить від багатьох чинників і можуть значно відрізнятися навіть на сусідніх вулицях міста. Структура відходів визначається рівнем розвитку країни, специфікою і розміщенням промислових та господарських об'єктів тощо. Приблизний склад міських твердих відходів у % наведено на рис.1.4.

До найбільш гострих проблем міст і інших населених пунктів відноситься проблема видалення і переробки твердих побутових і промислових відходів, що в значній мірі визначає санітарно-епідеміологічне благополуччя населених місць [7].

Проблема утилізації відходів є для України актуальною, оскільки країна виступає європейським лідером за кількістю відходів на душу населення. Водночас ситуація з їх утилізацією залишається на колишньому рівні. У зв’язку з тим, що склад вітчизняних відходів усе більше наближається до західного (одноразовий посуд, алюмінієві банки для напоїв, пластикова упаковка), кількість їх має сталу тенденцію до щорічного збільшення. Що особливо займають великий обсяг поліетиленових матеріалів, що майже не піддаються розкладанню. Велика кількість пакувального матеріалу після разового використання перетворюється у відходи, у сміття.

На смітники щорічно доводиться вивозити мільйони тонн сміття, і в деяких районах міст вже немає для цього місця. Позбутися від твердого сміття можна трьома способами: захоронення, спалювати чи утилізувати. У минулому, в основному використовували перші два способи. Однак сміттєві полігони займають багато місця і швидко заповнюються, а спалювання забруднює повітря.

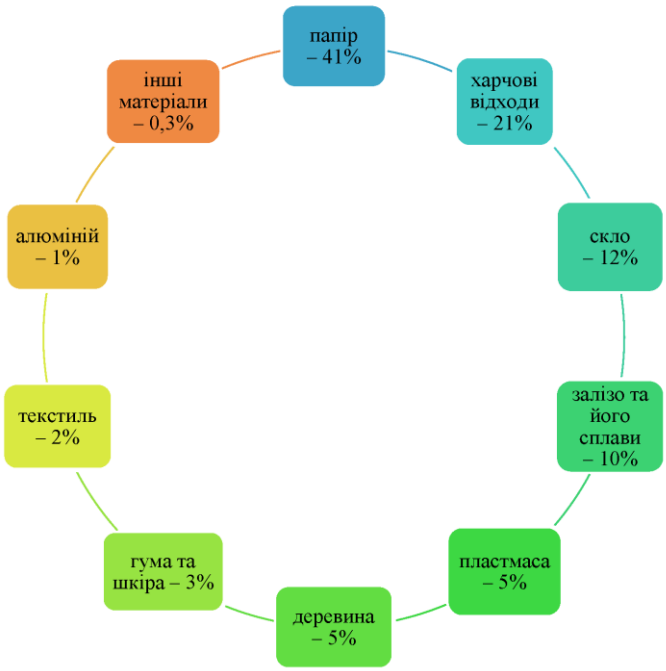



Рис. 1.4. Морфологія міських твердих побутових відходів

З іншого боку, якість сміття спалюваних заводів поліпшується. Колишні − забруднювали повітря продуктами згоряння, нові працюють набагато чистіше. Сучасні способи спалювання побутових відходів найбільш екологічні. Проте при спалюванні зменшується обсяг, але не масу сміття, а концентрація токсичних речовин підвищується, так що зола може виявитися занадто отруйною для безпечного поховання на смітниках [8].

Щорічно виробляються тонни сміття, що можна багаторазово використовувати як коштовний ресурс. Переробка відходів з використанням сучасних екологічно чистих технологій, зокрема утилізації сміття – дуже ефективний спосіб вирішення проблеми, але для цього необхідно змінити звичне поводження людей, оскільки господарське сміття необхідно сортувати, збираючи окремо харчові відходи, метал, папір і скло (так, як проблема відходів має високу гостроту через низьку швидкість їх розкладання. Папір руйнується через 2–10 років, консервовані банки майже за 100 років, поліетиленові матеріали − за 200 років, пластмаса − за 500 років, а скло для повного розкладу вимагає 1000 років). Небезпечними компонентами відходів є важкі метали і стійкі хімічні сполуки.

Крім того, тепер стало важче виявляти і контролювати головні джерела забруднення [9].

Тривалий час не вирішуються питання утилізації і вторинного використання полімерних відходів, що не розкладаються в ґрунті. Дрібні полімерні відходи знижують здатність ґрунту до його самоочищення. Загорання призводить до викиду в атмосферу токсичних продуктів.

Іншою проблемою є існуючий неорганізований скид рідких побутових відходів у систему каналізації, що значно погіршує її роботу і якість очищення стічних вод на станціях біологічного очищення, що у свою чергу не може не відобразитися на якості морської води [4].

Звільнення від відходів ведеться в трьох напрямах: 1) складування або захоронення таким чином, щоб вони не впливали негативно на навколишнє середовище; 2) знищення відходів шляхом їхнього спалювання; 3) очистка від шкідливих речовин, що становить найбільш складний процес, що здійснюється такими способами: а) механічна очистка методом відстою в спеціальних відстійниках рідких стоків, фільтрування; б) хімічна очистка, за якої шкідливі компоненти відходів перетворюються в осад; в) фізико-хімічна очистка, головним чином, методом електролізу; г) біологічна очистка за допомогою бактерій або інших живих організмів, здатних розкладати шкідливі речовини в процесі життєдіяльності [2, 8].

Небезпека звалищ несуть загрозу в першу чергу для навколишнього середовища, так як на стихійні звалища привозиться все, що завгодно, в тому числі і промислові відходи, утворюється високотоксичні речовини, які потрапляють в грунт, в грунтові води, а іноді і в підземні води. Крім того, ці звалища забруднюють величезну територію, забираючи сільськогосподарські родючі землі. І викиди в атмосферу такі, що значно перевищують гранично допустимі концентрації, і це істотно впливає на здоров'я людей. Поверхневі води, водні об'єкти дуже страждають. На жаль дуже часто люди, які живуть поруч, зменшують їх об'єм саме таким шляхом як підпал. Пожежі, що виникають

викликають не просто забруднення, а сильне отруєння навколишнього середовища [9].

Дуже гострою проблемою звалищ є отруєння ними водних джерел. Причиною є утворення так званого фільтрату – отруйної речовини, що утворюється з природних осадів, що проходять крізь шари сміття та збагачуються важкими металами та токсичними речовинами. Головними джерелами утворення отруйного фільтрату стають викинуті батарейки та акумулятори, побутова хімія, будівельні матеріали (залишки фарб, лаків, клеїв), «економні» лампи, що в собі містять ртуть[10].

Не меншою проблемою є розповсюдження на звалищах збудників небезпечних хвороб. Харчові відходи, що складають 25–30% всього сміття, є поживою для комах, щурів, собак та ряду птахів (сірі ворони, граки, галки, сизі голуби, мартини). У сприятливих для розвитку умовах збудники хвороб розмножуються, а тоді зі звалища переносяться в місця проживання людей, саме у такий спосіб звалища стають розплідниками мікроорганізмів, що викликають черевний тиф, дизентерію, холеру, лептоспіроз, а також туберкульозної та правцевої палички, бактерій газової гангрени та сибірської виразки тощо [10].

Відповідальність за ситуацію на полігонах чи сміттєзвалищах несе Державна екологічна інспекція. Але в більшості випадків цей контроль відсутній і самі полігони давно вичерпали свій термін експлуатації. Вони були побудовані в кращому випадку в 1980-х роках, тому що за останні 25–30 років практично крім полігону в Луганську, що зараз знаходиться на окупованій території, не було побудовано жодного нового. Екологічна інспекція не здійснює реально практичного контролю, і це бездіяльність призводить до таких трагічних наслідків, як загоряння звалищ у Київській, Вінницькій, Львівської, Хмельницької та інших областях.

В Україні дуже багато сміттєзвалищ, що вже по документах не мали би функціонувати, але туди все одно з'їжджаються автомобілі з різними видами сміття, що є незаконним вивезенням відходів.

Пересічний українець продукує сміття приблизно стільки ж як і мешканець Європейського Союзу – в середньому 300 кілограм на людину. Але в Європі дуже високий рівень переробки відходів, тому із 300 кілограм у Польщі, наприклад, утилізують на полігонах десь 130 кілограм, а у прогресивній Швеції – лише 3 кілограми. В Україні ситуація обернена – з 300 кілограм тільки 18 не потрапляє на сміттєзвалища.

## Розділ 2. Екологічні проблеми відходів транспортної інфраструктури

Транспорт − важлива складова частина світової економіки, так як є матеріальним носієм між державами. Транспортний фактор впливає на розміщення виробництва та раціонального розміщення продуктивних сил. При розміщенні виробництва враховується потреба в перевезеннях, маса вихідних матеріалів готової продукції, їх транспортабельність, забезпеченість транспортними шляхами, їх пропускна здатність і т.д. Залежно від впливу цих складових і розміщуються підприємства. Важливе значення транспорт має і у вирішення соціально-економічних проблем. Забезпеченість території добре розвиненою транспортною системою служить одним з важливих факторів розвитку населення і виробництва, є важливою перевагою для розміщення продуктивних сил і дає інтеграційний ефект.

Транспорт − дуже різноманітна галузь. Усі види, виконуючи головну функцію − забезпечення господарського комплексу країни у вантажних і пасажирських перевезеннях, вступають між собою та різними сферами виробництва у взаємодію. Це дає підставу розглядати транспорт як систему, а весь механізм формування і розвитку її у нерозривній єдності зі всією економікою країни [11].

Об’єкти транспортної інфраструктури включають в себе залізничні, трамвайні та внутрішні водні шляхи, контактні лінії, автомобільні дороги, тунелі, естакади, мости, вокзали, залізничні та автобусні станції, метрополітени, аеродроми і аеропорти, об'єкти систем зв'язку, навігації та управління рухом

транспортних засобів, а також інші забезпечують функціонування транспортного комплексу будівлі, споруди, пристрої й устаткування. До транспортних засобів відносяться повітряні судна, залізничний рухомий склад, судна, що використовуються з метою торгівельного мореплавства або судноплавства, рухомий склад автомобільного та електричного міського наземного пасажирського транспорту [11].

Проте термін «транспортна інфраструктура» іноді використовується і в більш широкому розумінні. Оскільки транспортна сфера завжди пов'язується з загальним розвитком продуктивних сил, то вона розглядається як одна з найважливіших складових частин інфраструктури економіки в цілому. У цьому значенні поняття «транспортна система» і «транспортна інфраструктура» практично тотожні.

## 2.1. Забруднення продуктами зношування транспортних засобів

У процесі руху транспортних засобів у навколишнє середовище надходять продукти зношування, які суттєво забруднюють його. Утворюються ці продукти внаслідок тертя деталей між собою під час роботи.

Основні джерела такого виду забруднення: деталі двигуна та трансмісії, гальмові колодки, шини.

Традиційним матеріалом для виробництва гальмівних колодок завжди був азбест. Це волокнистий мінерал, що має унікальні властивості, такі як термостійкість, міцність, еластичність, яких не мають інші природні матеріали. Проте азбестовий пил, що утворюється під час експлуатації автомобілів, визнано дуже шкідливим для здоров’я людини. Він потрапляє в органи дихання і не виводиться з організму, накопичується і спричиняє захворювання. В багатьох розвинутих країнах світу застосування азбесту в будь-яких галузях заборонено законодавчо.

Як замінних азбесту запропоновано композиційні матеріали, в яких роль азбесту виконують сталеві волокна. За результатами проведених випробувань

встановлено, що вони мають задовільний рівень ефективності гальмування, задовільну стабільність у процесі нагрівання і достатній рівень зносостійкості. Разом з цим, замінники азбесту мають підвищену теплопровідність, здатні створювати підвищений шум, а також можуть відшаровуватися від опори. Встановлено, що ресурс таких фрикційних накладок в 1,2–1,5 разів перевищує ресурс серійних накладок на основі азбесту.

Це не єдиний приклад заміни азбесту в автомобілебудуванні, і роботи в цьому напрямку проводять різні фірми.

Значну частину забруднення довкілля продуктами зношування автомобільного транспорту складають продукти зношування шин.

Розрахунки, виконані ДержавтотрансНДІпроектом Міністерства інфраструктури України, показали, що кожний легковий автомобіль до повного зношення рисунка протектора комплекту шин викидає в навколишнє середовище в середньому 14,2 кг гумового пилу, а вантажний автомобіль чи автобус (з колісною формулою 4х2) − 92,2 кг. Разом з тим, інтенсивність викидання гумового пилу в автомобілів із шинами, які відновлені методом накладання нового протектору, у 2 рази більша, ніж у серійних. За орієнтовними розрахунками, вантажні автомобілі середньої потужності протягом року викидають у атмосферу близько 30 тонн гумового пилу. До його складу входять шкідливі речовини, які поширюються у ґрунті й атмосфері. Основних компонентів чотири: каучук, сажа, смоли і мастила. Встановлено, що приблизно 10% цього пилу (природній каучук) розпадається і переробляється бактеріями, що є в ґрунті та включаються у, кругообіг вуглецю. Синтетичний каучук становить 38 % маси шини, стійкий до атмосферних умов і мікроорганізмів, тому не відбувається його надходження у природній кругообіг. Вважається, що під впливом кисню й ультрафіолетового випромінювання його молекули розпадаються і відбувається це значно швидше, ніжу компактному гумовому виробі. Сажа, яка за масою становить 25−30% продуктів зношування, забруднює атмосферу, затримуючись у повітрі впродовж 8 діб, погіршуючи, тим самим, видимість на дорогах та впливаючи на органи дихання людей, як будь-який пил.

За своїм хімічним складом сажа має розкладатися, але конкретних даних про ці процеси поки немає. Через наявність цього пилу після дощу дороги стають дуже слизькими і небезпечними [11].

У процесі експлуатації технічного обслуговування і ремонту рухомого складу автотранспорту на АТП утворюються різні промислові відходи, які за певних умов чинять шкідливий вплив на довкілля. На рис. 2.1 наведено узагальнену структурну схему основних виробничих відходів.

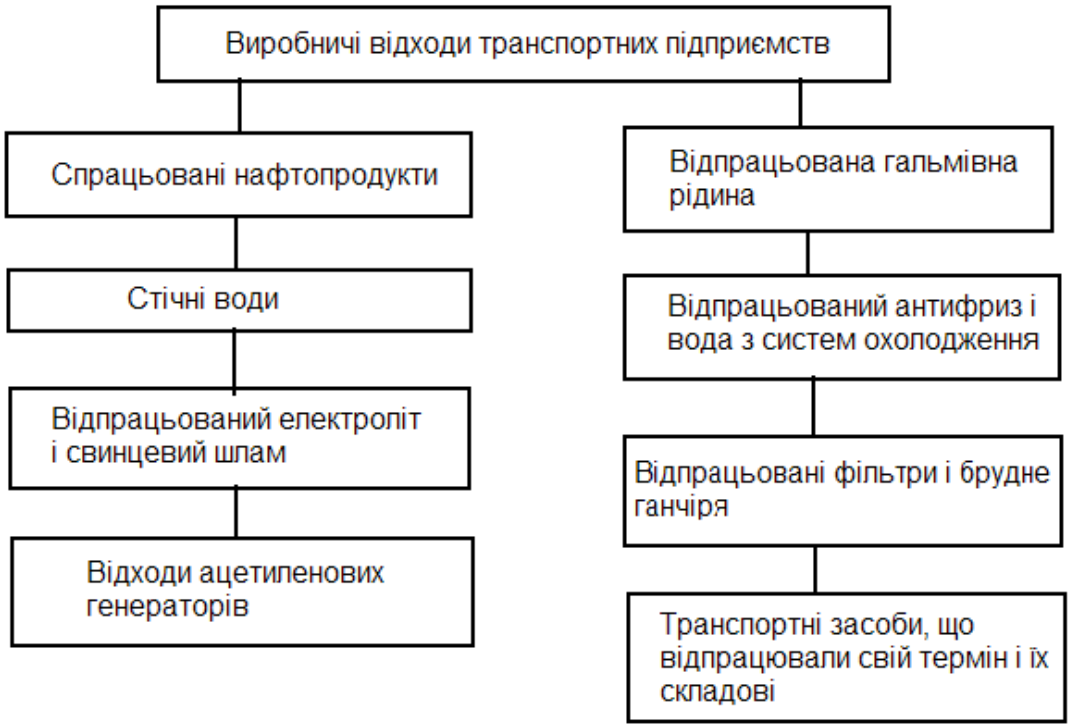



Рис 2.1. Узагальнена структура виробничих відходів транспортної інфраструктури [12]

До складу відпрацьованих нафтопродуктів входять відпрацьовані моторні оливи, трансмісійні оливи, консистентні мастила, індустріальні мастила, а також нафтопродукти, якими миють агрегати й вузли.

Дослідження показали, що об’єм відпрацьованих олив і мастил залежно від модифікації автомобілів, їх технічного стану, умов роботи рухомого складу мають різний склад і можуть становити від 13 до 33% витрати свіжих.

Раціональна організація збирання, зберігання та повторного використання на АТП спрацьованих нафтопродуктів має велике екологічне й економічне значення.

Вона надає можливості не лише запобігати забрудненню довкілля нафтопродуктами, але й забезпечує раціональне споживання вихідної сировини їх виробництва – нафти.

Встановлено три групи збирання спрацьованих нафтопродуктів:

1. Оливи моторні спрацьовані − сюди входять і моторні оливи, які використовують у трансмісіях в суміші з індустріальними мастилами.

2. Мастила індустріальні спрацьовані − разом з виділеними із спрацьованих емульсій суміші індустріальних мастил, турбінних, компресорних і т. і.

3. Суміші нафтопродуктів спрацьовані − маються на увазі ті, що застосовують як миючі рідини: бензин, керосин, дизельне паливо, трансмісійні оливи тощо.

Для збирання відпрацьованих нафтопродуктів і їх заміни на автомобілях застосовують спеціальне обладнання: пересувні ємності, возики, деки тощо.

Найефективнішими є стаціонарні пости для заміни олив і промивання двигунів зі спеціальними пристроями, що надають можливості механізувати процес зливання спрацьованих олив і промивних рідин. З метою забезпечення якісного збирання спрацьованих олив і промивних рідин на АТП мають бути обладнані пункти збору. Розміщують їх при складах паливно-мастильних матеріалів або на постах заміни мастил і промивки двигунів.

Зібрані за групами нафтопродукти мають бути направлені на підприємства, що спеціалізуються на збиранні нафтопродуктів та їх подальшій переробці. Але дуже часто, їх просто зберігають на транспортних підприємствах чи вивозять на звалища транспортної інфраструктури.

До стічних вод відносять води, що в процесі використання забруднюються різними компонентами. Це води, що використовують в миючих установках для зовнішнього миття автомобілів і їх окремих агрегатів, на фарбувальних ділянках, а також дощові води, що забруднюють різні компоненти з території автопідприємства. Тому в загальному випадку стічні води в своєму складі мають нафтопродукти, поверхнево-активні речовини миючих засобів, залишки фарби і розчинників, а також пісок, глину та інші тверді частинки. Природно, що без

відповідного очищення стічні води не можуть направлятись у водойми чи каналізацію та використовуватись в оборотному водопостачанні. Такі води мають відповідати певним санітарно-технічним вимогам, до яких відносяться [11]:

- гранично-допустима концентрація (ГДК) нафтопродуктів має становити 25 мг/л;

- біохімічна потреба в кисні (БПК), тобто масова концентрація кисню, необхідна для окиснення органічних речовин у стічних водах аеробними бактеріями за температури 20°С, не повинна перевищувати 50 мг/л;

- хімічна потреба в кисні (ХПК), тобто масова концентрація кисню, необхідна для повного окиснення забруднень, не повинна пе ревищувати БПК більш як у 1,5 рази;

- водневий показник кислотності та лужності pH має знаходитися в межах 6,6-8,5;

- загальна концентрація солей у стічних водах не повинна перевищувати 10 г/л;

- гранично допустимі концентрації синтетичних поверхнево-активних речовин – 20 мг/л.

Для забезпечення таких вимог стічні води піддають очищенню в очисних спорудах. Основним у цьому процесі є очищення води, що використовувалась для мийки автомобілів. Як правило, процес очищення включає етапи очищення води від піску, глини та інших твердих частинок, очищення води від нафтопродуктів та утилізацію видалених забруднень. Розроблені типові проекти очисних споруд і установок. Одним із сучасних напрямів покращення очищення стічних вод миючих установок є біохімічне очищення води, що дозволяє значно збільшити термін використання води при зворотному водопостачанні. Такий метод очищення води був розроблений і впроваджений в Жмеринському АТП. Суть методу полягає у використанні властивості води до самоочищення, яке здійснюють мікроорганізми, що є у воді та ґрунті [12]. Після очищення забрудненої води від механічних домішок в очисних спорудах її подальше освітлення і біохімічне очищення здійснюють у відстійниках активним мулом –

бактеріями. За даними, отриманими в названому автопідприємстві концентрацію нафтопродуктів зменшують з 10,8–16,4 мг/л до 1,2–1,5 иг/л, біохімічну потребу в кисні – з 88–244 мг/л до 4,2–7,5 мг/л.

*Відпрацьований електроліт і свинцевий шлам*. На АТП у великих об'ємах зберігають сірчану кислоту для приготування електроліту акумуляторних батарей. У процесі їх ремонту утворюються опрацьований електроліт − шкідлива для довкілля речовина, яка потребує нейтралізації.

Підчас експлуатації акумуляторних батарей у них утворюється свинцевий шлам, який випадає з анодних пластин активної маси. На дно акумуляторних батарей попадають також свинцевий пил і шматочки крихких свинцевих пластин.

Середній вміст шламу в спрацьованій акумуляторній батареї становить від 15 до 25% її маси. До складу сухого шламу входить: свинцю 70%, сурми 1%, вісмуту 0,1% і міді 0,2%. Тому мийка акумуляторних банок в місцях, де можливе попадання у стічні води або ґрунт залишків відпрацьованого електроліту та свинцевого шламу, недопустима. Лом акумуляторного свинцю (як цінного металу) необхідно збирати.

Для нейтралізації кислот у відпрацьованих електролітів використовують будь-який лужний реагент. Найчастіше − вапно, вуглекислий кальцій і магній. Для збирання свинцевого шламу застосовують спеціальну установку для миття акумуляторних банок. Щоб запобігти забрудненню довкілля у процесі приготування та заливання в акумуляторні батареї електроліту також застосовують спеціальні установки.

*Відходи ацетиленових генераторів*. На транспортних підприємствах у результаті застосування ацетиленових генераторів для зварювання і різання металу утворюються відходи карбіду кальцію. Погано організоване збирання, зберігання й утилізація цих відходів призводить до забруднення ґрунту та стічних вод.

Зберігати відходи ацетиленових генераторів необхідно в металевих ящиках, конструкція яких надає можливості здійснювати завантажування транспортного засобу без втрат.

Відходи ацетиленових генераторів можуть використовуватись у будівництві при проведенні штукатурних робіт і біління. Використання вказаних відходів не дає великої економії будівельних матеріалів, але сприяє раціональній утилізації, що запобігає попаданню цієї шкідливої речовини у ґрунт і водойми в разі вивезення відходів у відвали.

Для повної ліквідації на транспортних підприємствах відходів ацетиленових генераторів необхідно переходити на централізоване забезпечення ацетиленом.

*Відпрацьована гальмівна рідина.* Для запобігання попадання гальмівної рідини в навколишнє середовище необхідно на транспортних підприємствах використовувати для прокачування гальмівної системи транспортного засобу свіжою гальмівною рідиною спеціальну установку.

Злиту при цьому відпрацьовану гальмівну рідину відстоюють і очищену частково використовують повторно, а забруднену − утилізують.

*Відпрацьовані антифриз і вода з систем охолодження.* Через розширення використання в системах охолодження автомобільних двигунів рідин, що замерзають за низьких температур (антифризів), що містять отруйну речовину етиленгліколь, виникає небезпека забруднення ним ґрунту і стічних вод. Тому на АТП має бути налагоджено збирання, зберігання й утилізація спрацьованих антифризів.

*Рециклінг транспортних засобів.* Рішення цієї важливої з огляду екології задачі можливе, якщо її вирішення буде враховуватись на стадії розроблення нових моделей автомобілів і вибору матеріалів їх вузлів. Такий принцип прийнятий провідними автомобільними фірмами світу.

Наприклад, 87% загальної маси вантажного автомобіля фірми Scania, що складається приблизно з 8 тис. деталей, після закінчення строку служби може надходити до повторного використання. Як приклад можна розглянути автомобіль марки R113H 4x2. Його маса близько 5,9 т. Матеріали розподіляються так: сталь – 2400 кг; чавун – 1300 кг; сталевий лист – 1200 кг; гума – 600 кг; алюміній – 130 кг; пластмаси – 30 кг; свинець – 50 кг; мідь – 30 кг; лаки – 30 кг; цинк – 4 кг. Після зняття з експлуатації автомобіля і його розбирання на повторну

переробку надходять чорні метали, алюміній, свинець і мідь. Пластмаси і гума можуть перероблятися з витримуванням вимог охорони довкілля, якщо точно відомо їх склад. Фірма Scania ввела маркування деталей з гуми і пластмас у відповідності до німецьких стандартів VDA260 Для зменшення впливу паків і їх розчинників останнього часу використовують нанесення лаків напилюванням і використання лаків на водній основі.

Аналогічні роботи проводить фірма Volkswagen, зокрема на легкових автомобілях Golf, в яких усі пластмасові деталі також мають маркування, 60 % з них виготовлені з матеріалів, придатних до повторного використання.

Таким чином визначили і застосовують найефективніші методи утилізації і цього типу виробничих відходів автомобільного транспорту.

Важливим з екологічної та техніко-економічної точок зору є раціональне використання зношених автомобільних шин, які містять дефіцитну полімерну сировину (каучук), метал, технічний вуглець та інші наповнювачі. Традиційно зношені шини поновлюють накладанням нового протектора, ті шини, що не підлягають такому використанню, подрібнюють з подальшим виготовленням з кришки різних виробів, а також добавкою її в дорожні покриття.

Використовують зношені шини цілими у спорудах для захисту берегів річок і морів від ерозії як бар'єри та огорожі автомобільних доріг, блоків для стін гаражів, майстерень, складів.

## 2.2. Морфологічний склад відходів транспортних засобів

Виведений з експлуатації транспортний засіб, залишений в покинутому стані є концентрованим джерелом антропогенного забруднення довкілля. Незважаючи на це, важко уявити життя сучасного суспільства без, наприклад, автомобільного чи авіаційного транспорту, що постійно вдосконалюється: збільшується потужність двигуна, поліпшується дизайн, вдосконалюється система безпеки, підвищується комфортабельність, а внаслідок технічного розвитку

змінюється морфологічний склад транспортного засобу (рис. 2.2): для його виробництва використовуються все нові матеріали.

Рис. 2.2. Матеріали, що використовують під час виробництва автомобілів у Європейському Союзі

У транспортному засобі, що вийшов з експлуатації залишаються всі ті матеріали, що були використані під час його виготовлення: чорні і кольорові метали, нафтопродукти, мастильні та охолоджуючі рідини, пластики і текстиль, гумотехнічні вироби, скло і кераміка, картон, дерево та ін.

Для правильного поводження з транспортними засобами, що вийшли з експлуатації та правильного підбору процесів і методів їх подальшої переробки, їх систематизують. Усі ці матеріали можуть і повинні стати вторинними ресурсами для виробництва нової товарної продукції.

Систематизація відходів автомобілю, що вийшов з експлуатації представлено на рис. 2.3.

Літак, як і будь-який інший технічний об’єкт машинобудування, є об’єктом проектування і являє собою складну технічну систему з розвиненою ієрархічно структурою. При системному підході, вирішення завдань певного ієрархічного рівня, вимагає побудови усієї ієрархії системи. Тому необхідно розглядати системи і підсистеми літака більш високих ієрархічних рівнів, наприклад, транспортну систему і її підсистему – авіаційно-технічний комплекс (АТК). У свою чергу літак розглядається як вихідна (базова) підсистема, де можна виділити за рівнями ієрархії такі підсистеми, як планер, силові установки, спорядження,

обладнання, авіоніку, систему шасі і т.д. Кожна з цих підсистем при проектуванні піддається декомпозиції, тобто розділяється на низку ще більше дрібних підсистем (складових), елементів, агрегатів і вузлів. Графічно ієрархічну структуру літака по укрупненим агрегатам можна, можливо уявити у вигляді граф-дерева (рис. 2.4).

Літак складається з мільйонів компонентів (деталей), що після списання машини повинні підлягати подальшій переробці. Іншими словами, літак – це величезна кількість металевих і композиційних деталей, що мають синхронно летіти на швидкості 900 км/год (0,85 від швидкості звуку, це типова швидкість Boeing 787 Dreamliner) на висоті 10 км.

Тобто пара-трійка мільйонів деталей виготовляється і збирається в один виріб – і літак летить, забезпечуючи комфорт пасажирам і прибуток власникам. Але по завершенню терміну експлуатації ЛА сам літак і його деталі стають відходами. Деякі його матеріали утилізують за допомогою автоматизованих комплексів, деякі вимагають великої кількості ручної праці. Частина авіаційних відходів спрямовується на звалища назавжди. Якась частка відходів тимчасово складується в очікуванні виникнення відповідних технологій. І такими технологіями є авіарециклінг і утилізація.

Опис технології утилізації починається в аеропорту стоянки або на базі зберігання авіаційної техніки. Тут літак є частиною (компонентом, елементом) складної транспортної авіаційної системи в авіаційно-технічному комплексі.

У першу чергу з систем літака видаляють:

- залишки палива, що не вдалося повністю злити з машини;
- технічні рідини, що використовувалися в різних системах агрегатів;
- вибухові пристрої катапульт;
- технологічні електронні прилади;
- пасажирське обладнання;
- пластикові обшивки, накладки і т. д.;
- допоміжне технологічне обладнання – дроти, силові та передавальні пристрої приводів шасі, елеронів, закрилків, керма управління – сотень вузлів

(рис. 2.5). Подальша переробка індивідуальна для кожної групи матеріалів. Корпуси літаків надходять в цехи де в процесі переплавки отримують чорні (25%) і кольорові метали (більше 70 %). Прилади, плати, радіоелементи надходять для переробки на інші підприємства.

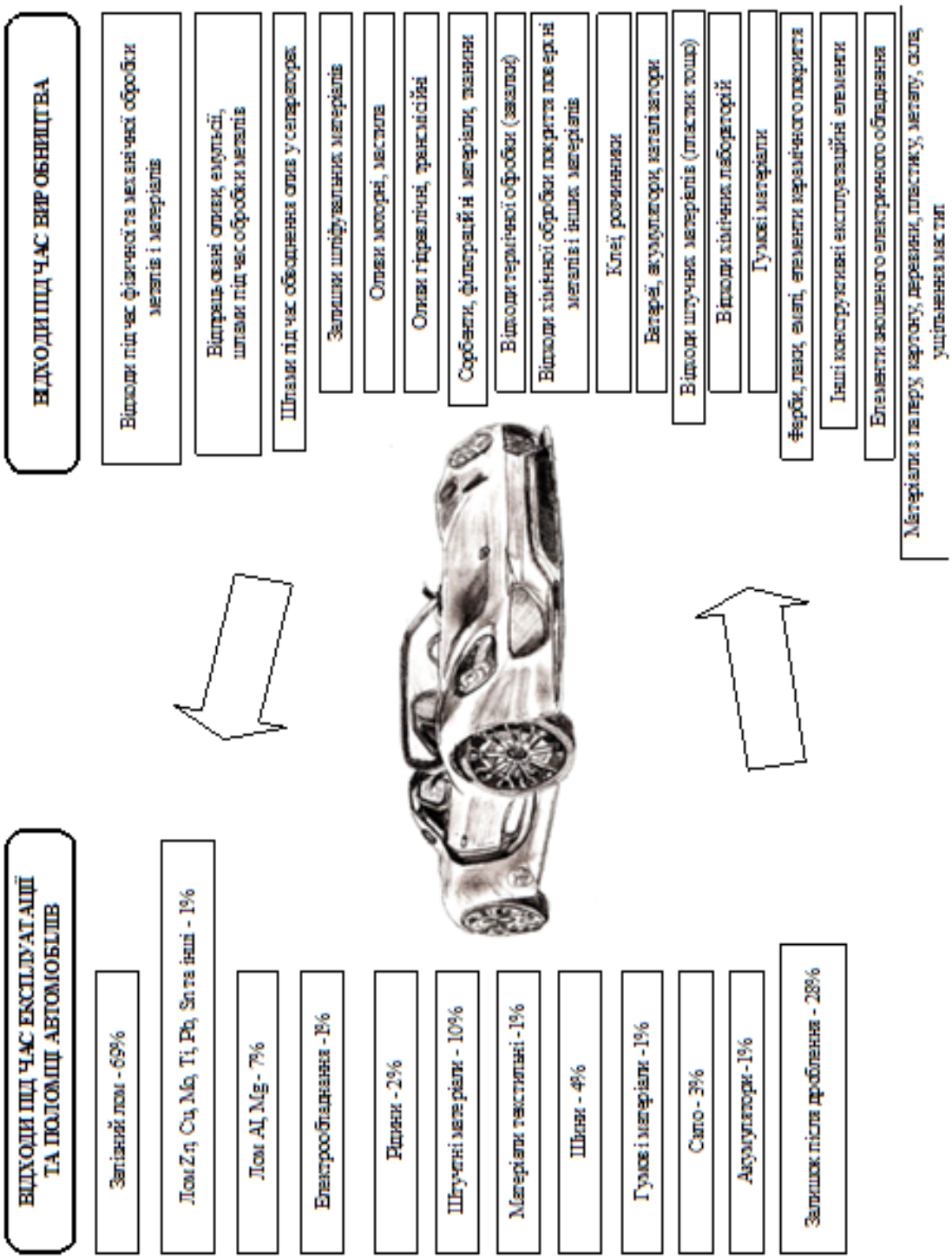



Рис. 2.3.Систематизація відходів автомобілю, що вийшов із експлуатації

Метою переробки є отримання міді, олова, срібла, золота і платини з деталей списаних комп'ютерів, навігаційного обладнання, засобів зв'язку.

Залишки апаратури спочатку розбираються і розсортовуються вручну. На другому етапі в технологічних лініях здійснюється хімічна переробка матеріалів.

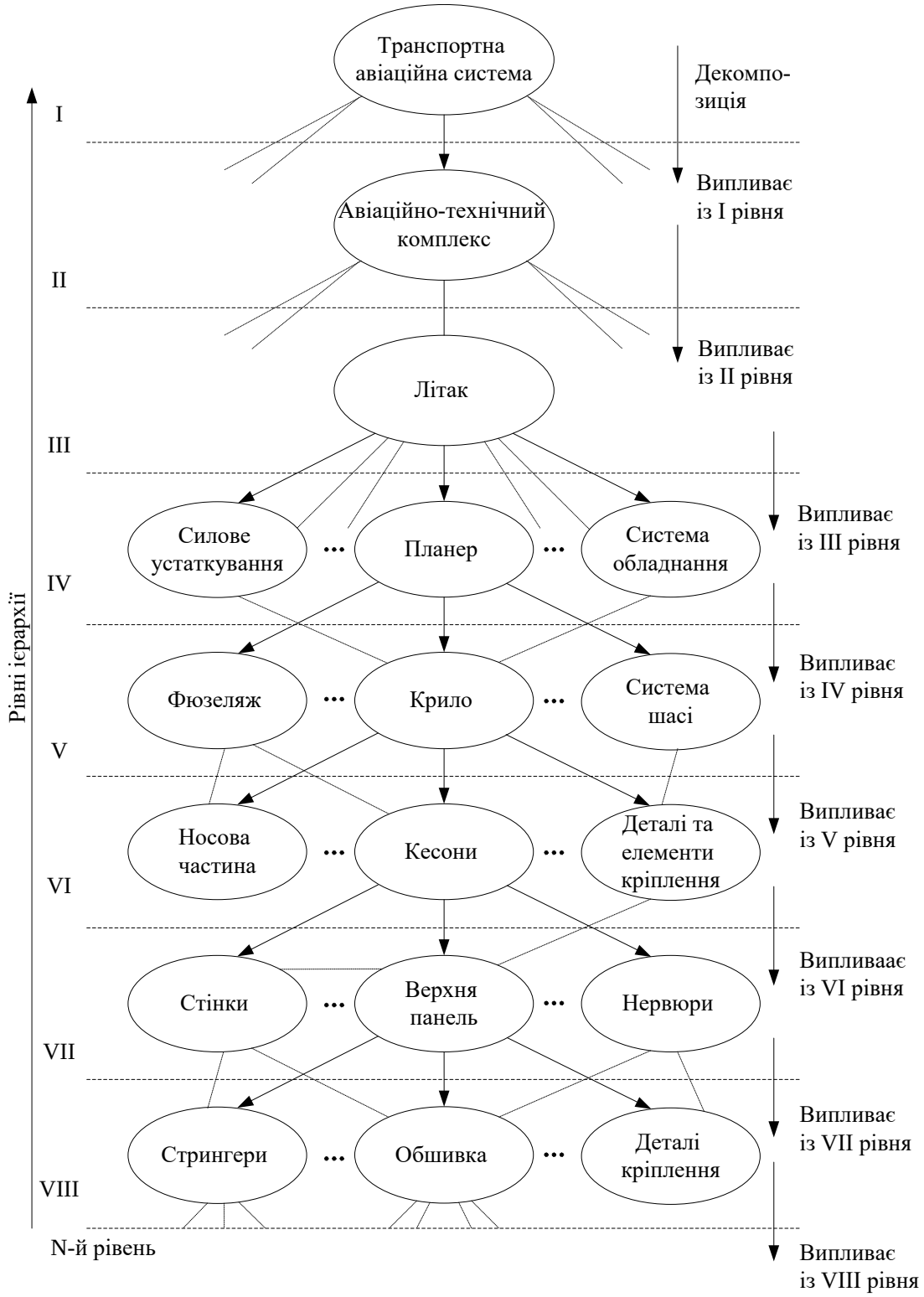



Рис. 2.4. Фрагмент граф-дерева ієрархічної структури літака

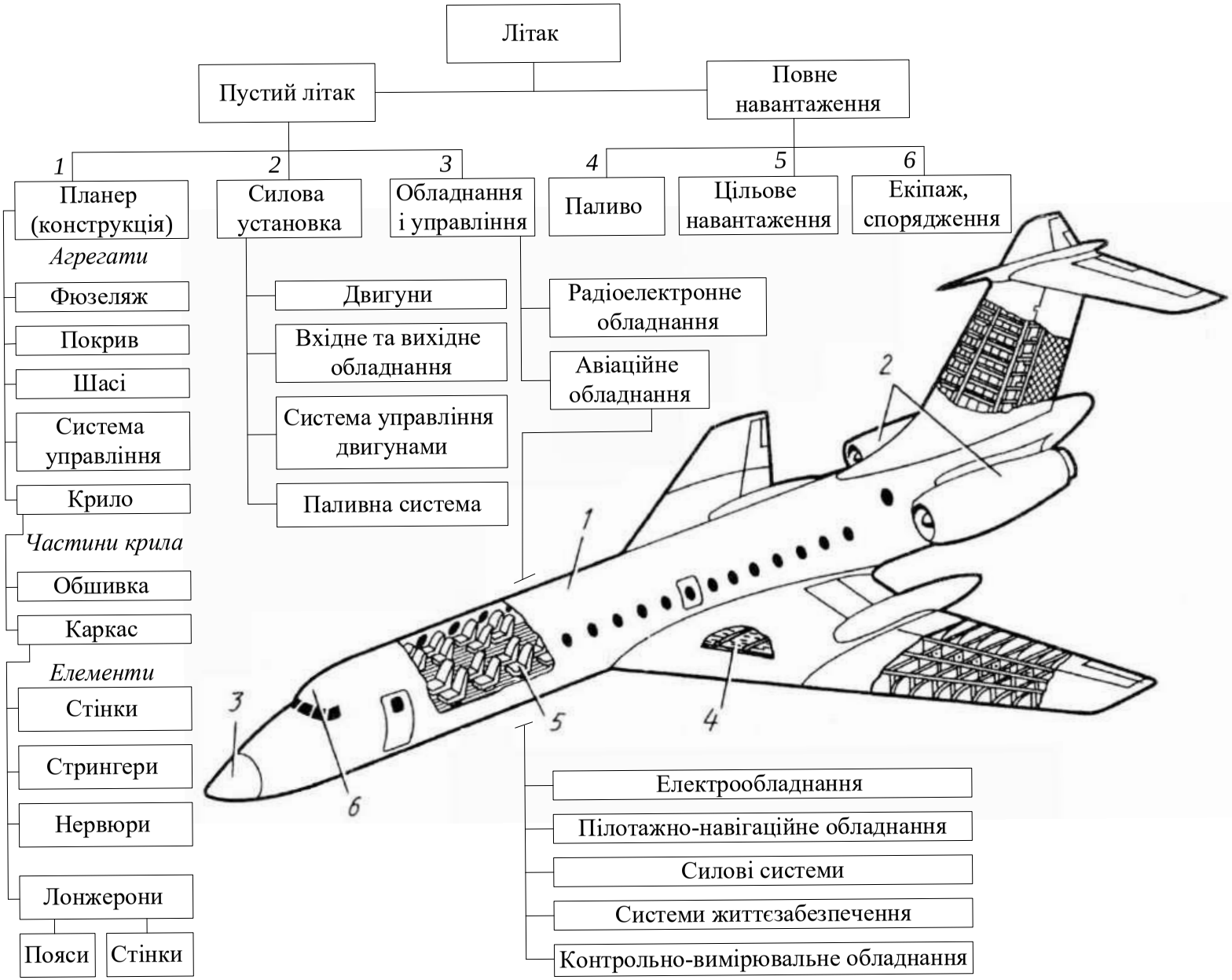



Рис. 2.5. Морфологічний склад відходів літака

Проте, незважаючи на певний технологічний рівень утилізації авіаційних відходів, що існує у світі сьогодні, в найближчій перспективі для її здійснення потрібні інші технології: замість металу підвищується питома вага композитних матеріалів, в приладах не використовуються в такій кількості дорогоцінні метали. Композитні матеріали, що складаються з армуючої карбонової сітки і поліамідних (полістирольних) наповнювачів в процесі утилізації підлягають розчиненню.

На думку переробників відходів, утилізація літаків у відриві від процесу їх створення економічно необґрунтована. Вартість матеріалів, видобутих з літака, в порівнянні з витратами, що необхідні для його розбирання: до покинутого на далекому аеродромі літаку необхідно доставити бригаду фахівців та обладнання; демонтаж оснащення лайнера не тільки трудомісткий, але і пов'язаний з дотриманням підвищених норм санітарної безпеки проведення робіт, збору, зберігання і вивезення багатьох (часто токсичних) матеріалів; подальше сортування, логістика та переробка – досить затратні заходи.

Однак, це лише вершина айсберга. За оцінками провідних світових авіакорпорацій, до 2030 р. буде потрібно оновити близько 35 тисяч лайнерів. На виготовлення кожної машини потрібно від 50 тонн металу, сотень кілограм полімерів. При цьому в галузі списується щорічно більше 500 літаків – ті ж тисячі тонн алюмінію, нікелю, сталі і полімерів. Перед авіабудівниками стоїть завдання: оптимізувати кругообіг матеріалів, перетворивши сферу виробництва і використання повітряного флоту в замкнутий цикл.

Виходячи із ситуації, що склалася у всьому світі протягом останніх десятиріч, застосування процесів авіарециклінгу та утилізації є альтернативним джерелом для одержання необхідних авіаційних запчастин і компонентів літака.

## 2.3. Інвентаризація звалищ м. Києва та Київської області, що містять відходи транспортної інфраструктури

Аналізом даних у мережі Інтернет, а також використовуючи технологію космічних знімків Maxar та наукових пошуків нами було виявлено такі звалища,

що містять відходи транспортної інфраструктури або пов’язані з транспортною інфраструктурою:

1. Сміттєзвалища поблизу Міжнародного аеропорту «Бориспіль» (рис. 2.6–2.7). Окрім офіційного звалища ТОВ «Еко-Сервіс» (біогазова електростанція) виявлено звалище поблизу самого аеропорту (рис. 2.7а).

2. Сміттєзвалище у с. Проліски Бориспільського району Київської області (рис. 2.8–2.9).

3. Сміттєзвалище поруч із сміттєспалювальним заводом «Енергія» ПАТ «Київенерго», м. Київ, вул. Колекторна, 44 (рис. 2.10).

4. Кладовище військової техніки на території Київського бронетанкового заводу (рис. 2.11–2.12).

5. Кладовище підйомних кранів у Голосіївському районі м. Києва на березі Дніпра (рис. 2.13–2.14).

6. Кладовище автобусів і тролейбусів КП "Київпастранс" у Дарницькому районі м. Києва на території астобусного парку, вул. Бориспільська, 15 (рис. 2.15–2.17).

7. Кладовище кинутих авто у Деснянському районі м. Києва (Троєщина, вул. Милославська) (рис. 2.18–2.20).

8. Полігон твердих побутових відходів №5 ПрАТ «Київспецтранс», с. Підгірці Обухівського району Київської області (рис. 2.21–2.22).

Наму було складено загальну карту проаналізованих звалищ транспортної інфраструктури м. Києва та Київської області, що наочно наведено на рис. 2.23.

Для всіх звалищ було проаналізовано космічні знімки та складено карту. Для складання карти було використано дані та базову карту OpenStreetMap (https://www.openstreetmap.org). Для нових, несанкціонованих звалищ, інформація про які була відсутня в OpenStreetMap, автори додали геометрію полігонів звалищ до бази даних OpenStreetMap. Крім цього, вказану базу даних було доповнено інформацією про райони навколо звалищ (землекористування, дороги), що було отримано дешифруванням космічних знімків, а також з кадастру. Це дозволило скласти детальні карти навіть для тих районів, про які було мало інформації у базі

даних OpenStreetMap (у першу чергу це знадобилось для околиць Міжнародного аеропорту «Бориспіль» та для міста Бориспіль). Окрім даних OpenStreetMap на карти також додано векторну інформацію про полігони сміттєзвалищ: вони позначені на рисунках темно-коричневим кольором та підписані. Вказані полігони було побудовано за актуальними космічними знімками території звалищ.

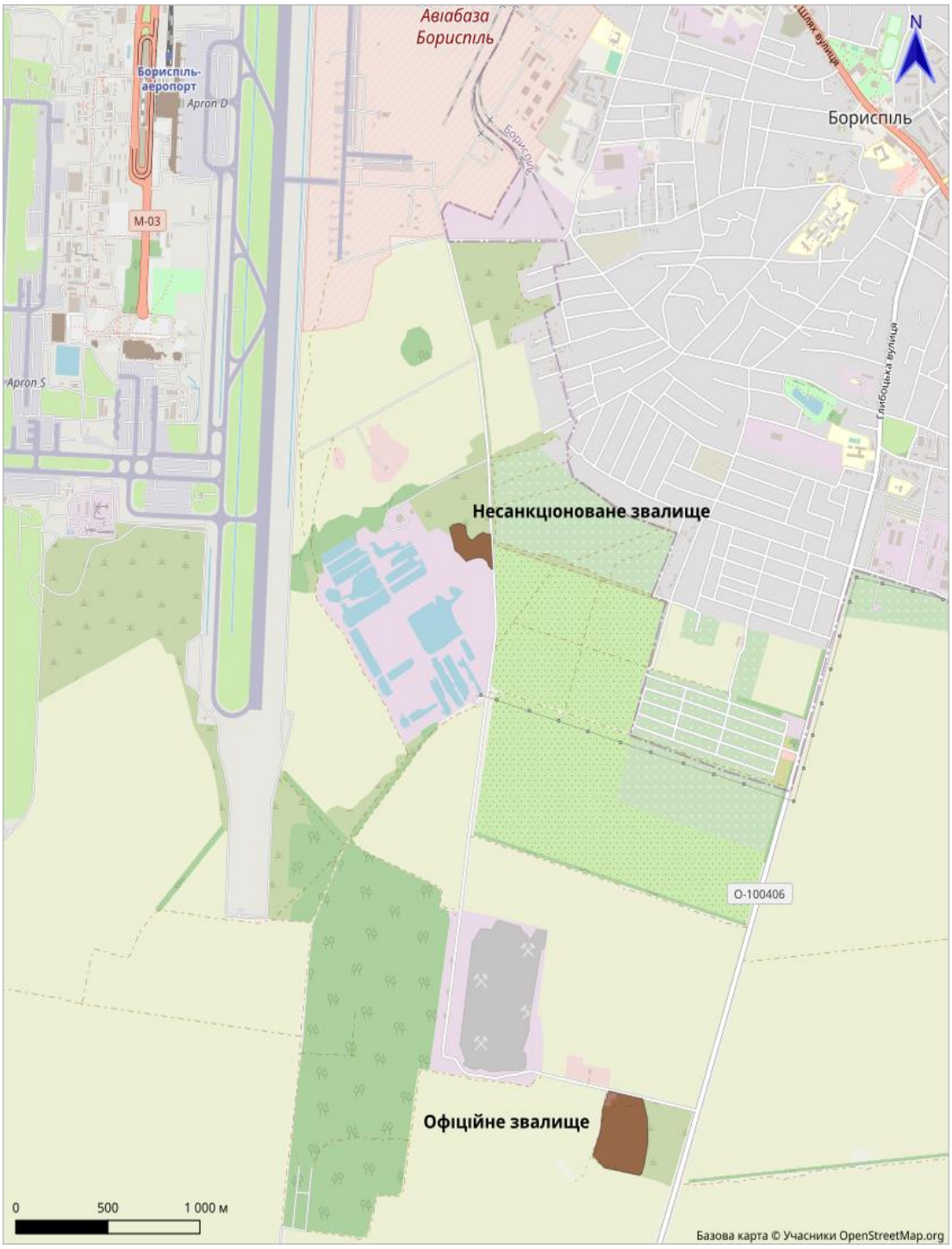



Рис. 2.6. Сміттєзвалища поблизу Міжнародного аеропорту «Бориспіль»

https://www.google.com/maps/@50.3206444,30.9293939,4257m/data=!3m1!1e3

а) Стихійне звалище (поруч з очисними спорудами)

б) Офіційне звалище (біогазова електростанція)

Рис. 2.7. Космічні знімки сміттєзвалищ поблизу Міжнародного аеропорту «Бориспіль»

Рис. 2.8. Сміттєзвалище у с. Проліски Бориспільського району Київської області,
https://www.google.com/maps/@50.3894123,30.8115008,632m/data=!3m1!1e3

Рис. 2.9. Космічний знімок сміттєзвалища у с. Проліски Бориспільського району.

Рис. 2.10. Сміттєзвалище поруч із сміттєспалювальним заводом «Енергія» ПАТ «Київенерго» (м. Київ, вул. Колекторна, 44). Праворуч – космічний знімок північної частини звалища,

https://www.google.com/maps/@50.3870873,30.6580414,1503m/data=!3m1!1e3

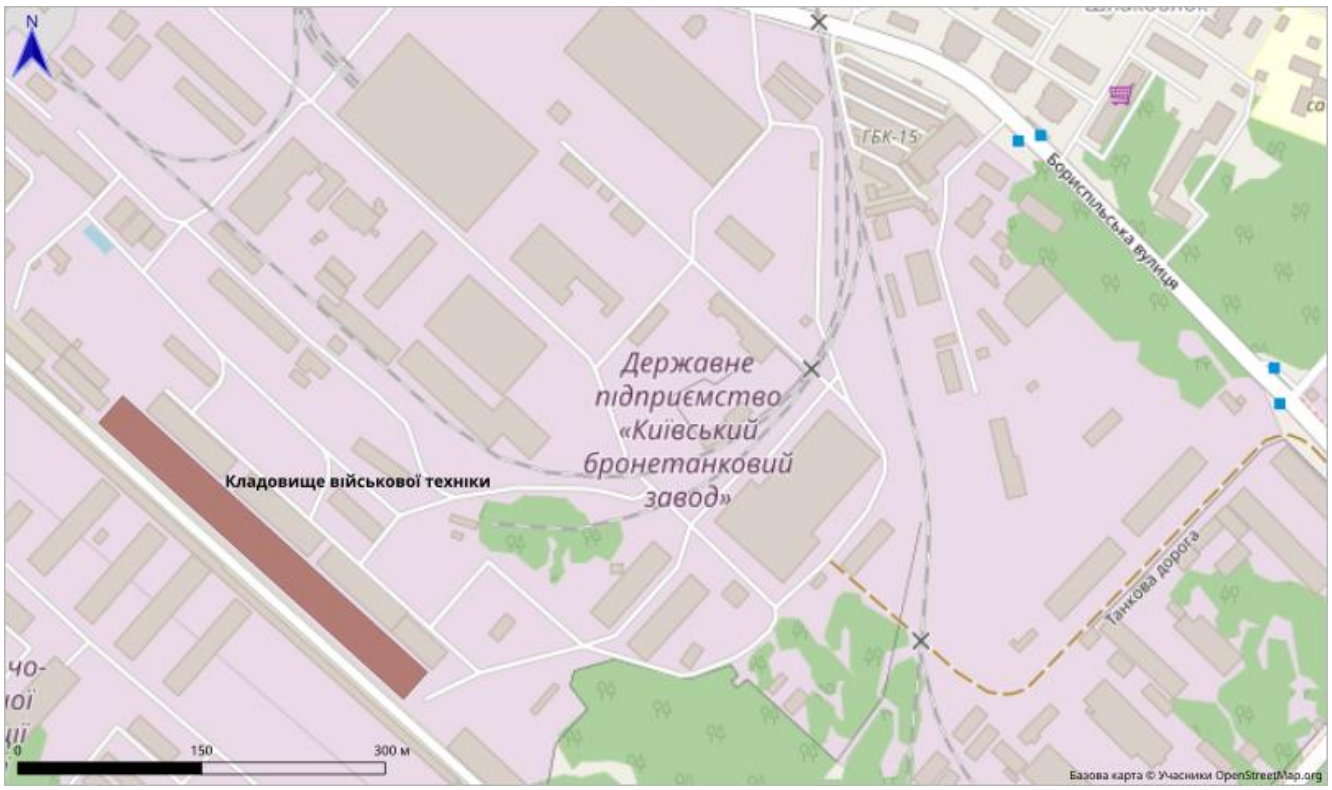


Рис. 2.11. Кладовище військової техніки на території Київського бронетанкового заводу (внизу – космічний знімок),
https://www.google.com.ua/maps/@50.418515,30.696571,376m/data=!3m1!1e3

Рис. 2.12. Фотографія кладовища військової техніки на території Київського бронетанкового заводу.

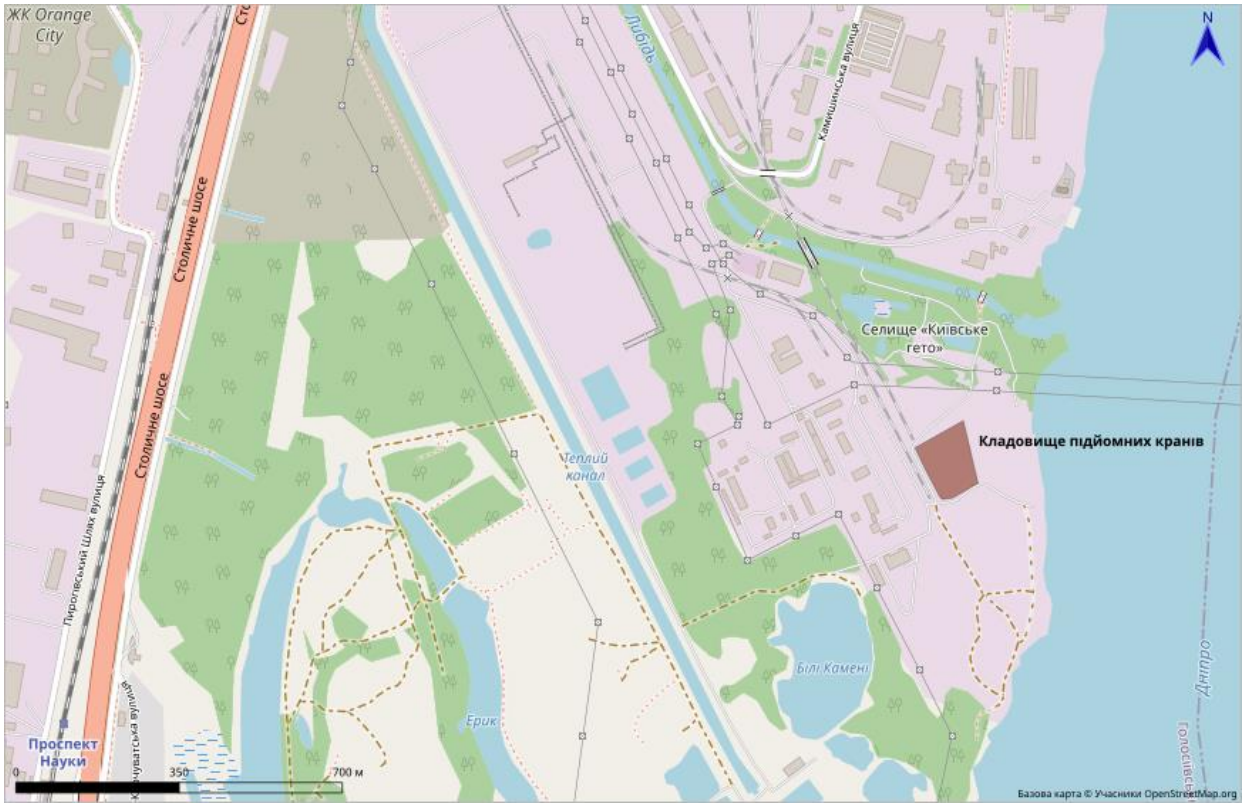



Рис. 2.13. Кладовище підйомних кранів (м. Київ).

Рис. 2.14. Космічний знімок та фотографія кладовища підйомних кранів (м. Київ), https://www.google.com.ua/maps/@50.3794015,30.576161,316m/data=!3m1!1e3

Рис. 2.15. Кладовище автобусів і тролейбусів КП «Київпастранс» (м. Київ, вул. Бориспільська, 15), https://www.google.com.ua/maps/@50.4272677,30.6862816,446m/data=!3m1!1e3

Рис. 2.16. Космічний знімок кладовища автобусів і тролейбусів КП «Київпастранс»

Рис. 2.17. Фотографії кладовища автобусів і тролейбусів
КП «Київпастранс»

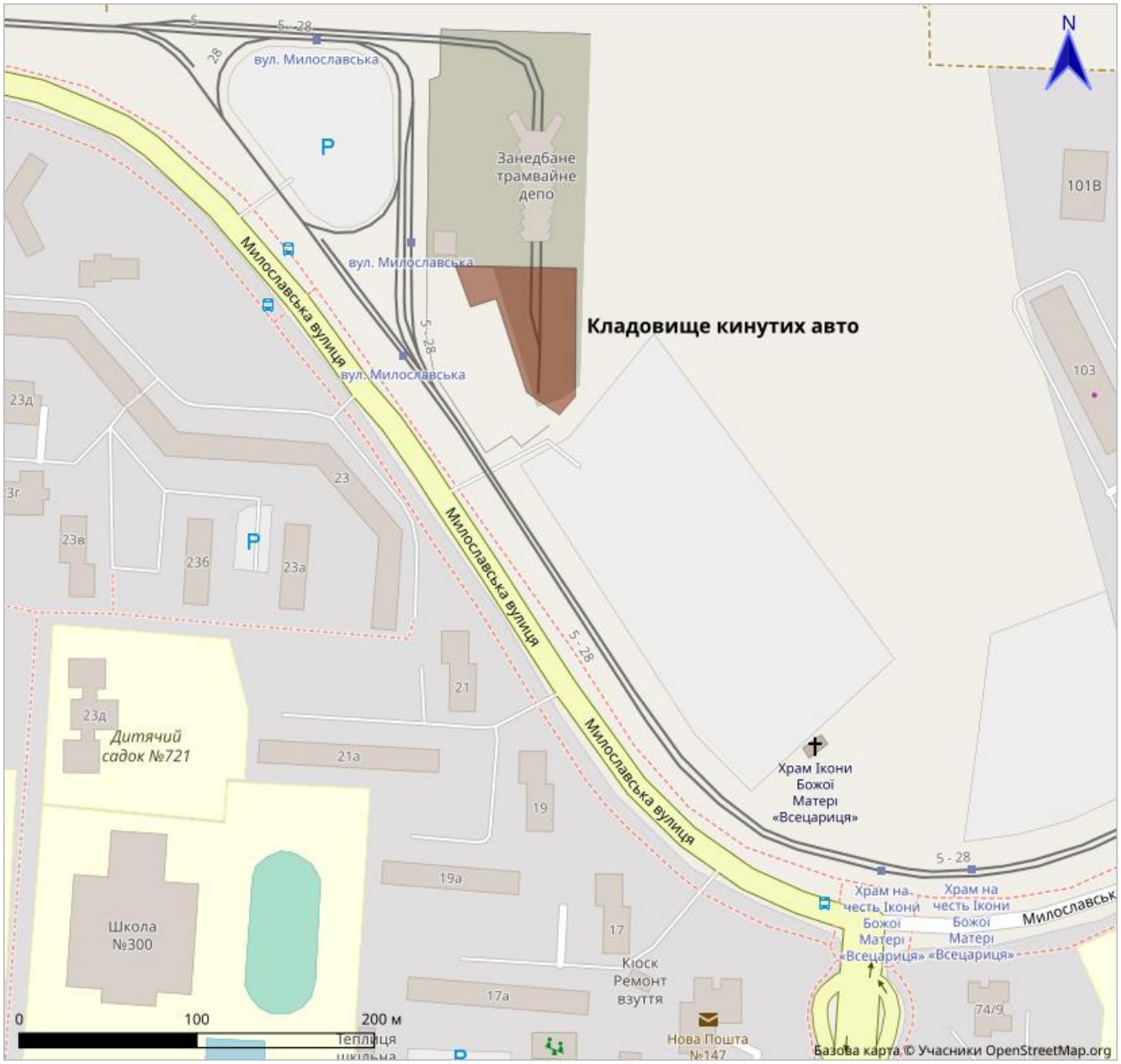



Рис. 2.18. Кладовище кинутих авто на Троєщині (м. Київ, вул. Милославська),

https://www.google.com.ua/maps/@50.5317431,30.6171911,111m/data=!3m1!1e3

Рис. 2.19. Космічний знімок кладовища кинутих авто на Троєщині.

Рис. 2.20. Фотографії кладовища кинутих авто на Троєщині.

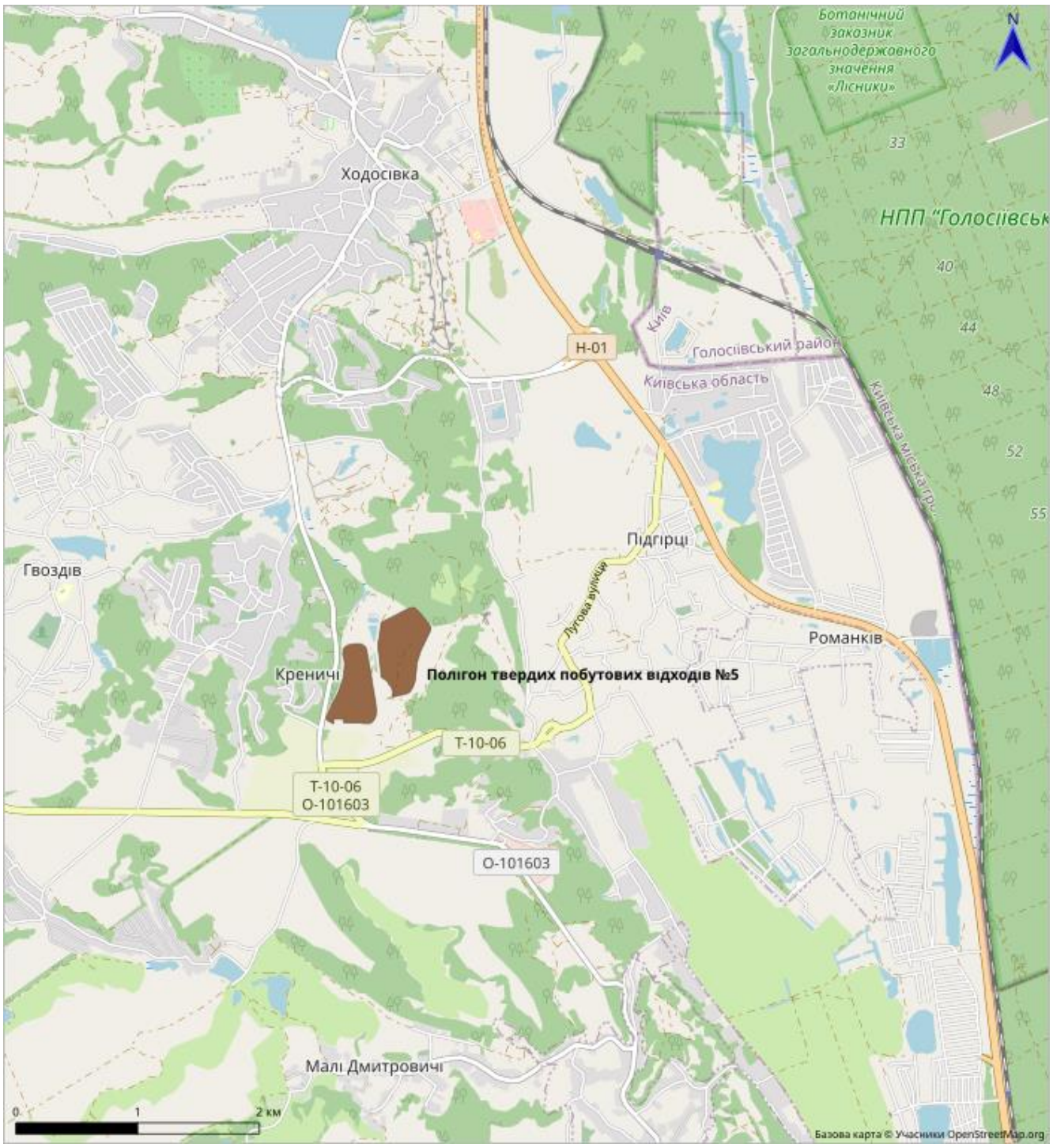



Рис. 2.21. Полігон твердих побутових відходів №5 ПрАТ «Київспецтранс» (с. Підгірці Обухівського району Київської області), https://www.google.com/maps/@50.2369055,30.5228748,1305m/data=!3m1!1e3

Рис. 2.22. Космічний знімок полігону твердих побутових відходів №5.

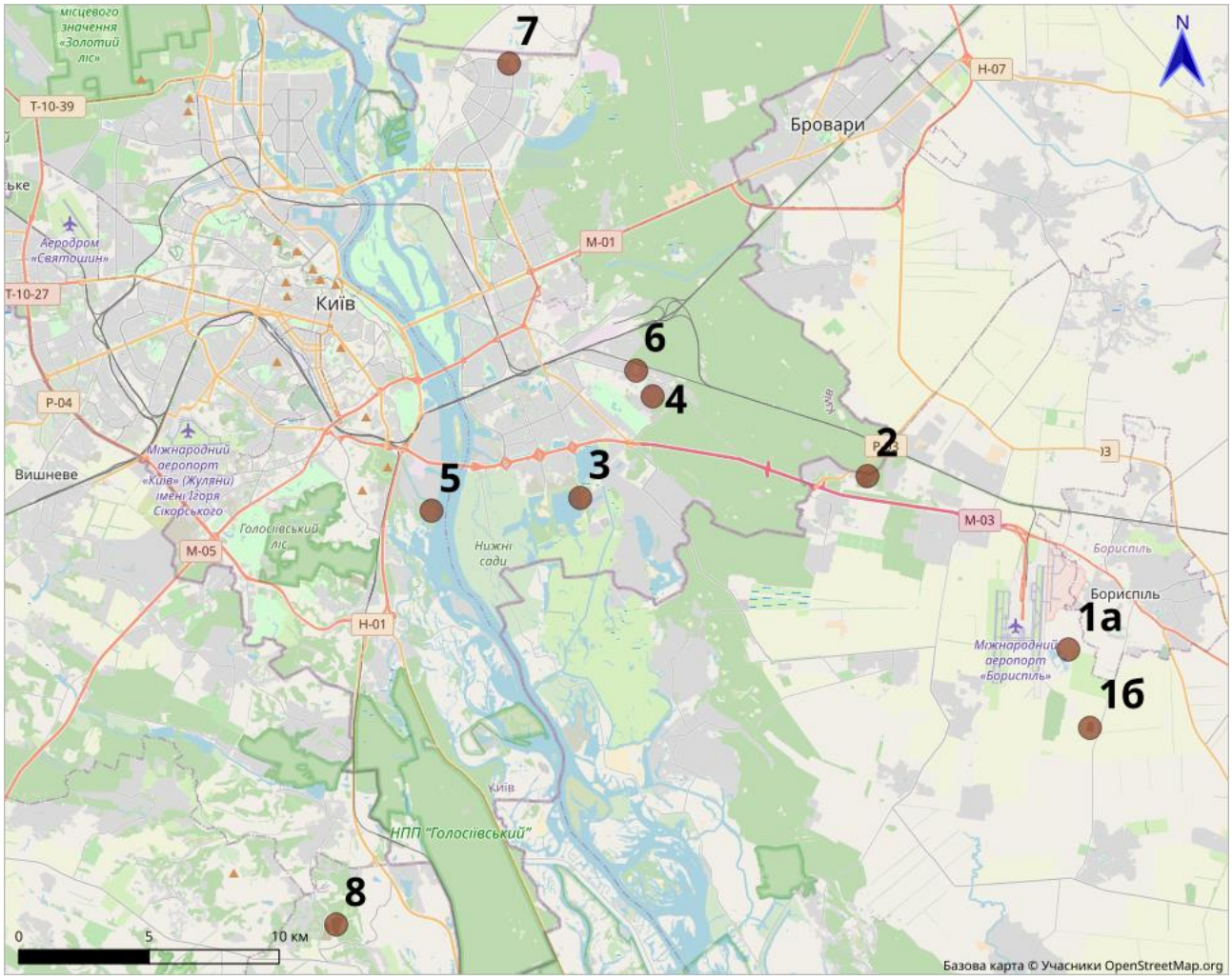



Рис. 2.23. Вивчені звалища транспортної інфраструктури м. Києва та Києвської області:

1 – сміттєзвалища поблизу Міжнародного аеропорту “Бориспіль” (а – стихійне , б – офіційне);
2 – сміттєзвалище у с. Проліски Бориспільського району Київської області;
3 – стихійне сміттєзвалище поруч із сміттєспалювальним заводом «Енергія»;
4 – кладовище військової техніки на території Київського бронетанкового заводу;
5 – кладовище підйомних кранів у Голосіївському районі м. Києва на березі Дніпра;
6 – кладовище автобусів і тролейбусів КП "Київпастранс" у Дарницькому районі м. Києва;
7 – кладовище кинутих авто у Деснянському районі м. Києва
8 – полігон твердих побутових відходів №5 , с. Підгірці Обухівського району.

## Розділ 3. Аналіз комплексу мікроорганізмів, ізольованих з звалищ транспортної інфраструктури

### 3.1. Матеріали та методи досліджень.

Для реалізації завдань проєкту у роботі застосовували сучасні мікробіологічні методи виділення, ідентифікації, культивування мікроорганізмів та визначення їх особливостей (культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних).

Для виділення культур мікроорганізмів були використані: зразки із звалищ транспортної інфраструктури міста Києва (рис. 3.1–3.4) та грунт, забруднений авіаційним паливом ТС-1.

*а*

*б*

*в*

*Г*

Рис. 3.1. Зразки відібрані на звалищі автомобільного заводу (сміттєзвалище у с. Проліски Бориспільського району Київської області): *а* – фото інструментарію для взяття проб; *б* – фото взяття зразка №1; *в* - фото взяття зразка №2; *г* - фото взяття зразка №3

**Зразок №1 –** проба ґрунту взята в середовищі розкладання автомобільних ущільнювачів та гідравлічних шлангів. **Зразок №2 –** проба ґрунту взята в

середовищі розкладання автомобільних гумових та пластикових деталей. **Зразок №3 –** проба ґрунту взята в середовищі розкладання ТПВ. **Зразок №4 –** проба, фрагмент гумового автомобільного коврика. **Зразок №5 –** проба, фрагмент автомобільної камери колеса. **Зразок 6 –** проба ґрунту взята в середовищі розкладання харчових відходів. **Зразок 7 –** проба шламу, взята на дні резервуару з дизельним пальним.

Рис. 3.2. Зразки відібрані на звалищі автомобільної розбірки, за адресою м. Київ, вул. Медова 1б

**Зразок №1М –** проба гумового автомобільного ущільнення. **Зразок №2М –** проба ґрунту взята в середовищі розкладання - автомобільних пластикових деталей. **Зразок №3М –** проба, фрагмент автомобільної шини колеса. **Зразок №4М –** проба, залишок відпрацьованої моторної оливи; **Зразок №5М** - грунт насичений моторною оливою. **Зразок №6М** – тверді побутові відходи.

**Зразок № 1ПЖ**

**Зразок № 2ПЖ**

**Зразок № 3ПЖ**

**Зразок № 4ПЖ**

**Зразок № 5ПЖ**

**Зразок № 6ПЖ**

Рис. 3.3. Зразки відібрані на звалищі поблизу ДМА «Київ» (Жуляни)

**Зразок №1ПЖ -** проба твердих харчових відходів. **Зразок №2ПЖ** - проба ґрунту взята в середовищі розкладання харчових відходів. **Зразок №3ПЖ –** проба автомобільних ущільнювачів. **Зразок №4ПЖ** – проба твердих побутових відходів. **Зразок №5ПЖ –** проба тепло ізолюючого шару авто. **Зразок №6ПЖ** – проба шматок автомобільного пластику та шматок автошини.

**Зразок №1ВРЗ**

**Зразок №2ВРЗ** **Зразок №3ВРЗ**

**Зразок №4ВРЗ** **Зразок №5ВРЗ**

Рис. 3.4. Зразки відібрані на звалищі вагонно-ремонтного заводу центрального залізничного вокзалу. м. Київ, вул. Старовокзальна 2

**Зразок №1ВРЗ –** проба залишків сверлильно-токарних робіт. **Зразок №2ВРЗ –** проба ТПВ. **Зразок №3ВРЗ –** грунт насичений нафтопродуктом

(ймовірніше дизельним паливом). **Зразок №4ВРЗ –** проба харчових відходів. **Зразок №5ВРЗ** - проба , фрагмент камери автомобільного колеса.

Для отримання накопичувальних культур мікроорганізмів зразки розміщували на поверхні агаризованих таких середовищ: Malt extract agar, Malt agar (MEA, MA виробництва Merck KGaA, Німеччина), Nutrient Agar (NA, Sigma), триптиказо-соєвий агар (TCA), агар Чапека–Докса, картопляно-глюкозний агар (КГА або PDA – Potato Dextrose Agar), агар Сабуро (HiMedia Laboratories) [7]. Виділення чистих культур мікроорганізмів із накопичувальних культур здійснювали із застосуванням стандартних мікробіологічних методів культивування на відповідних агаризованих живильних середовищах (MEA, PDA, Чапека-Докса).

Ізольовані чисті культури мікроскопічних грибів ідентифікували за допомогою визначників вітчизняних та зарубіжних авторів [7; 8; 9; 10; 11; 12]. Таксономічний аналіз здійснювали за IX-м виданням «Словника грибів» [13]. Сучасні видові назви грибів уточнювали, використовуючи ресурси Інтернет, зокрема дані Індексу грибів [www.speciesfungorum].

Визначення фізіолого-біохімічних характеристик та ідентифікацію чистих культур мікроорганізмів (бактерій, дріжджів) проведено з використанням мікробіологічного аналізатору «Vitek-2» («Bio Merieux» (Франція) та відповідних ID-карток для грампозитивних, грамнегативних, спороутворювальних бактерій та дріжджів (GP-, GN-, BCL та YST-картки, відповідно). Для фарбування ізольованих бактерій за Грамом використовували набір барвників за Грамом (Merck KGaA, Німеччина).

Для визначення особливостей розвитку ізольованих чистих культур мікроорганізмів у паливі ТС-1 суспензію тест-культур мікроскопічних грибів вносили в мінеральне середовище (у відповідності до ГОСТ 9.023-74) та додавали чисте паливо для реактивних двигунів (ПРД) у співвідношенні 1:1 (рис. 3.5).

Рис. 3.5. Схематичне зображення методичного підходу проведення досліджень

Пробірки струшували і культивували у термостаті за температури 28°±1°С. Візуальну оцінку росту проводили за ознаками: прозорість середовища, пігментація середовища, наявність плівки на межі мінеральне середовище-паливо, наявність осаду, розташування колоній грибів.

## 3.2. Комплекс мікроорганізмів, ізольованих з звалищ транспортної інфраструктури

У результаті проведених досліджень встановлено, що в накопичувальних культурах, отриманих шляхом розміщення проб (зразків) на агаризованих живильних середовищах, розвивалися міцеліальні, дріжджеподібні гриби та бактерії (рис. 3.6 та рис. 3.7).

На живильних середовищах, багатих за органічними складовими (MEA, КГА (=PDA), Сабуро), спостерігали інтенсивне та швидке обростання зразків мікроскопічними грибами відділу *Zygomycota* порядку *Mucorales*, що заважало виділенню чистих культур (рис 1.9). Для запобігання виникнення цієї проблеми висів зразків (проб) доцільно здійснювати на спеціальні селективні живильні середовища. З метою визначення кількісних показників щодо вмісту мікроорганізмів в досліджуваних зразках необхідно застосовувати відповідні

наважки проб з подальшим приготуванням суспензій в стерильній воді або фізіологічному розчині (0,9% хлориду натрію).

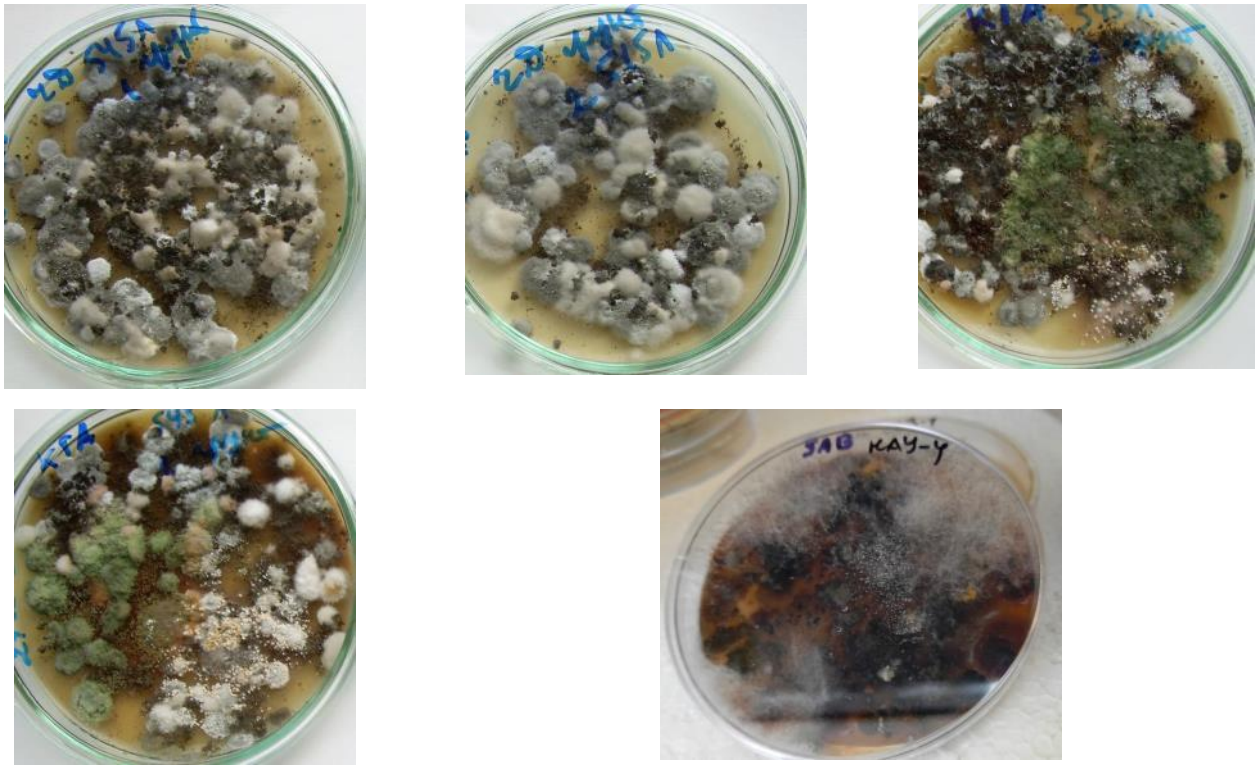


Рис. 3.6. Накопичувальні культури мікроскопічних міцеліальних грибів на живильних середовищах

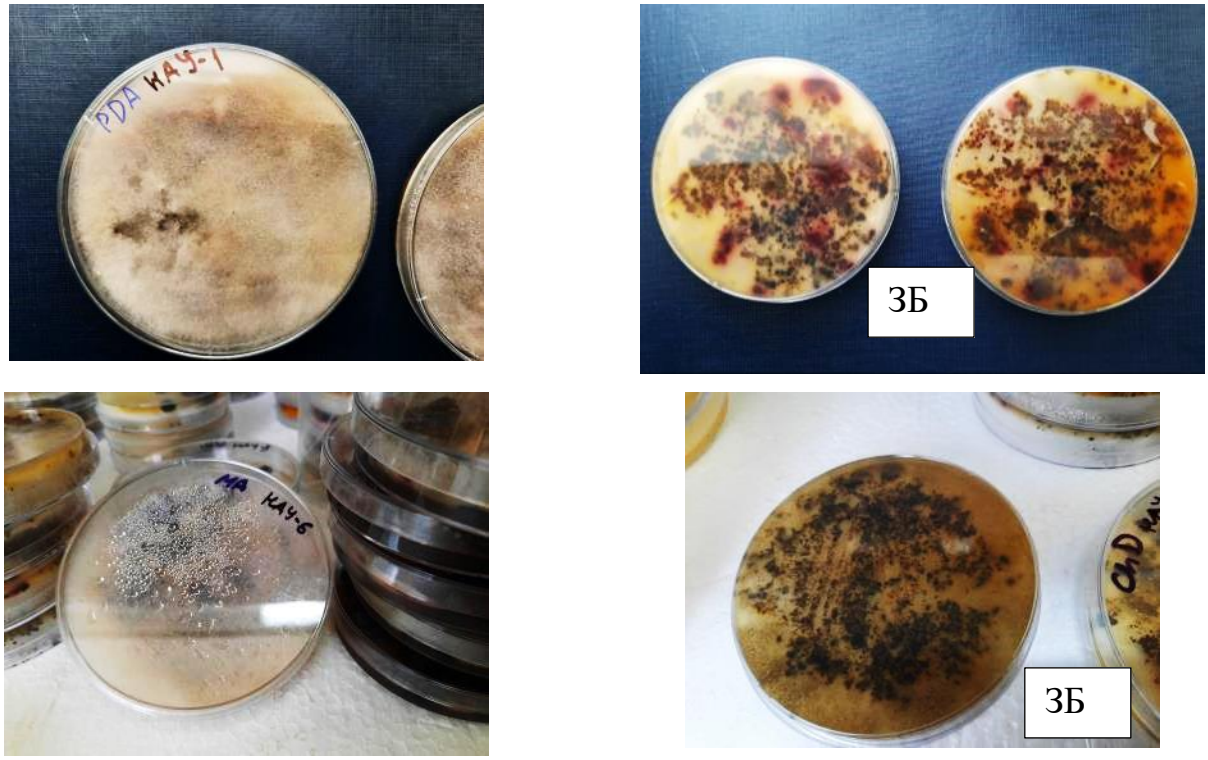



Рис. 3.7 Розвиток мікроскопічних грибів відділу *Zygomycota* порядку *Mucorales* на досліджуваних зразках. ЗБ – зворотній бік чашок Петрі

У досліджених нами зразках виявлено комплекс мікроскопічних грибів, що належать до відділу *Zygomycota*: представники родів *Mucor (M. plumbeus), Rhizopus* (*Rh. stolonifer* var. *stolonifer*), відділу *Ascomycota: представники родів Chaetomium, Eurotium, Emericella nidulans, Microascus.* Найбільша кількість виділених грибів належить до групи *Anamorphic fungi*: представники родів *Acremonium, Alternaria, Aspergillus (Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, A. niger* var. *niger, A. ochraceus, A. oryzae* var. *oryzae, A. sydowii, A. versicolor*), *Aureobasidium pullulans* var. *pullulans, Cladosporium (C. cladosporioides, C. herbarum, C. macrocarpum, C. shaerospermum), Geotrichum candidum, Fusarium (F. poae), Paecilomyces, Penicilum (P. aurantiogriseum, P. brevicompactum, P. citrinum, P. funiculosum P. purpurogenum), Phoma, Scopulariopsis, Trichoderma (T. viride).*

Із зразків грунту, забрудненого паливом ТС-1, а також у шламі дизельного палива (зразок № 7) нами ізольовано субстратспецифічний ґасовий гриб *Hormoconis resinae* (*Cladosporium resinae*) (рис. 3.8).

Серед бактеріальних культур було констатовано наявність як Грам-позитивних (Г+), Грам-негативних (Г⁻) культури, так і Г-варіабільних «асоціацій». Останні складались або виключно із бактеріальних культур (2–4 види), або із комплексів бактерій із дріжджоподібними мікроскопічними грибами (дріжджами).

При роботі із виявленими в зразках комплексами «бактерії-дріжджі», «2-4 види бактерії-бактерії», в більшості випадків нам не вдалося розділити мікроорганізми та отримати окремо чисті культури бактерій та дріжджів. При намаганні здійснити вищезазначений процес мікроорганізми втрачали свою життєздатність.

Серед грам-негативних культур бактерій переважали представники роду *Pseudomonas,* серед спороутворювальних – види роду *Bacillus*. Дріжджоподібні мікроскопічні гриби представлені видами *Rhodotorula* sp. (відділ Basidiomycota) та *Candida* spp. (відділ Ascomycota) (рис. 3.9-3.10).

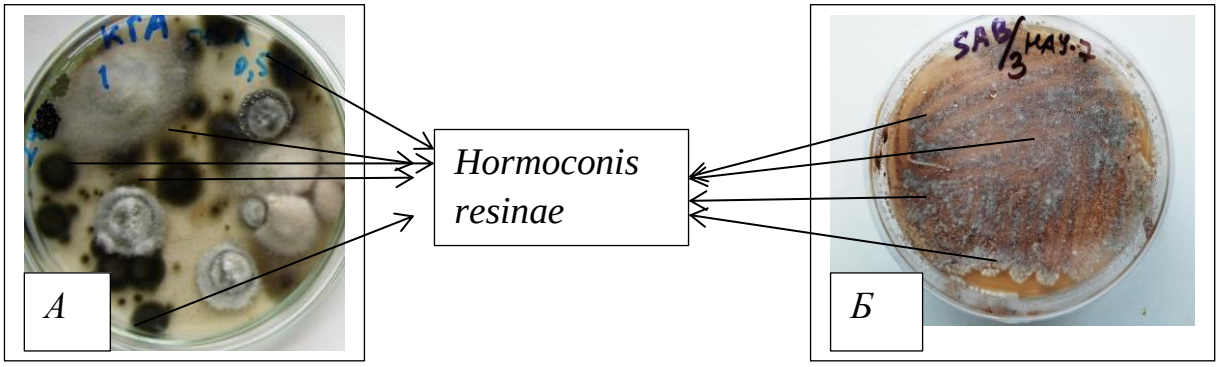



Рис. 3.9 Hormoconis resinae в накопичувальній культурі: А – в зразках грунту, забрудненого паливом ТС-1; Б – у шламі дизельного палива

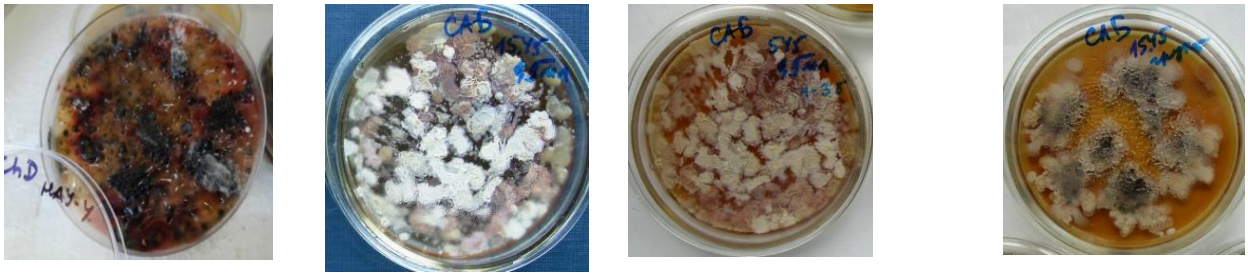


Рис. 3.10. Накопичувальні культури мікроскопічних дріжджоподібних грибів та бактерій на живильних середовищах

Відомо, що більшість мікроорганізмів утворюють біоплівки – більше 99% всіх мікроорганізмів на Землі існують в таких угрупованнях. У них співіснують мікроорганізм різною ферментативною активністю, різними адаптивними властивостями тощо. Наймовірніше, що у виявлених нами комплексах, мікроорганізми також можуть існувати спільно тільки у складі біоплівок. *Розширення даних про склад біоплівочних угруповань має сьогодні велике практичне значення щодо їх використанням в біотехнології.*

Необхідно зазначити, що проблеми, пов’язані з біопошкодженням / руйнацією матеріалів, набувають важливого значення та постають з надзвичайною гостротою з огляду на питання екології міст та з урахуванням специфічності їх мікобіоти, оскільки у формуванні мікобіоти міста велику роль відіграють наявність різноманітних привнесених людиною елементів міської інфраструктури – несанкціонованих звалищ, різноманітних покриттів доріг і т.

ін., на яких відбувається інтенсивний розвиток грибів. Відомо, що у містах формуються грибні комплекси, відмінні від мікобіоти зональних біогеоценозів за складом видів, видовій структурі, сезонній динаміці грибних комплексів. Мікроскопічні гриби являють собою велику групу мікроорганізмів, яким властиві біологічні ознаки, що відрізняють їх серед інших живих організмів та дозволяють освоювати широке коло антропогенних субстратів. Вони здатні адаптуватися до умов існування завдяки особливостям міцеліальної структури талому; швидкому або повільному росту міцелію; потужному та лабільному ферментному апарату; великій генетичній та біохімічній мінливості (пластичністі); значній швидкості розмноження; здатності швидко реагувати на дію несприятливих факторів оточуючого середовища, переходом до анабіозу і можливості перебувати в цьому стані без втрати життєздатності. Руйнівна дія мікроміцетів на матеріали та вироби, обумовлена, по-перше, агресивним впливом на них метаболітів грибів (огранічних кислот, окисно-відновлювальних, гідролітичних ферментів, пігментів). По-друге, гриби руйнують ці матеріали механічно: проникаючи в пори та мікротріщини, сприяють їх розширенню. Кількість видів грибів, що спричинюють деградацію/деструкцію матеріалів, виробів невпинно збільшується. Серед них є багато патогенних, умовно патогенних, токсичних видів, що завдають шкоди здоров'ю людини. У наш час нараховується близько 80–100 тисяч видів грибів, що складають, за думкою мікологів-таксономістів, лише 4–5 % від всіх видів, що існують в природі. За різними даними описано від 450 до 800 видів умовно-патогенних та патогенних грибів, що спричинюють захворювання людини та тварин і цей список постійно поповнюється. Про більшість подібних мікроорганізмів ще 20–25 років назад нічого не було відомо чи їх оцінювали як небезпечні для здоров'я види. Державними санітарними правилами ДСП 9.9.5.035-99 визначено Перелік патогенних для людини мікроорганізмів, серед яких низку грибів віднесено до II-IV патогенності.

Серед виявлених мікроорганізмів велику частку складають представники видів мікроскопічних грибів, небезпечних для здоров'я людини (види порядку *Mucorales, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, A. nigervar. niger, Geotrichum*

*candidum*). Заслуговують на особливу увагу виявлені нами чисельні представники дріжджів *Candida* spp. Та бактерій роду *Pseudomonas,* які потребують подальших досліджень.

Сьогодні дані наукової літератури та нормативні документи інших країн, які обгрунтовують та регламентують перелік умовно-патогенних та патогенних видів мікроскопічних грибів, свідчать, що їх перелік набагато більший, ніж зазначений у ДСП 9.9.5.035-99. Дані медичної мікології свідчать, що кількість видів грибів – збудників захворювань людини – весь час стрімко зростає. До патологій, що спричинюють мікроскопічні гриби, належать алергічні стани (мікоалергози), мікотоксикози та мікози. Останнім часом серед міського населення констатується постійний ріст числа алергічних захворювань, спровокованих одним з основних факторів ризику – грибними алергенами. З респіраторними симптомами мікогенної алергії пов’язують більше 80 видів грибів. Епідеміологічні та клінічні дослідження сфокусовані на таких основних видах як *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp. і *Penicillium* spp. Встановлено, що від 50 до 80% хворих на бронхіальну астму позитивно реагують на проби з антигенами плісеневих грибів. Дані літератури свідчать про вплив різних концентрацій спор плісеневих грибів на розвиток алергічних захворювань у людей, що мають підвищену чутливість до мікогенних алергенів. За участю спор мікроскопічних грибів як механізми ураження людей розглядаються алергічні, токсичні ефекти.

Отже, наявність у Києві несанкціонованих звалищ, забруднення грунтів продуктами нафтопереробки (паливно-мастильними матеріалами тощо), розвиток в таких осередках комплексів різноманітних мікроорганізмів (серед яких є небезпечні для здоров’я людини) призводить до виникнення негативної санітарно-епідеміологічної ситуації.

## Розділ 4. Дослідження здатності комплексу мікроорганізмів, ізольованих з звалища транспортної інфраструктури міста Києва до деструкції/деградації нафтопродуктів

### 4.1. Вплив фізико-хімічних властивостей паливно-мастильних матеріалів на життєдіяльність мікроорганізмів-деструкторів

З метою встановлення взаємозв'язку між впливом фізико-хімічних властивостей паливно-мастильних матеріалів на життєдіяльність мікроорганізмів-деструкторів були виконані дослідження зміни властивостей традиційних і альтернативних моторних палив в акредитованій Випробувальній інтерактивній лабораторії «АвіаТЕСТ» з використанням стандартних методів досліджень (табл. 4.1.) [21– 25]. Результати випробувань, наведених у табл. 4.2. 4.3, 4.4, яскраво свідчать про закономірності вливу фізико-хімічних властивостей палив на життєдіяльність мікроорганізмів, що були виявлені.

*Таблиця* 4.1

**Стандартизовані методики дослідження фізико-хімічних та експлуатаційних властивостей палив**

| № з/п | Найменування показника | Метод випробування | Вимірювальне устаткування та приладдя |
|---|---|---|---|
| 1 | Густина | ДСТУ ГОСТ 31072:2006<br>Нафта і нафтопродукти. Метод визначення густини, відносної густини та густини в градусах API ареометром<br>ASTM D4052<br>Standard Test Method for Density, Relative Density, and API Gravity of Liquids by Digital Density Meter | Ареометр |
| 2 | Кінематична в'язкість | ДСТУ ГОСТ 33-2003 Нафтопродукти. Прозорі і непрозорі рідини. Визначення кінематичної в`язкості і розрахунок динамічної в`язкості<br>ASTM D445<br>Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity) | Термостат «Градієнт», віскозиметри |
| 3 | Температура спалаху у відкритому тиглі | ДСТУ ГОСТ 4333:2018 Нафтопродукти. Методи визначення температур спалаху та займання у відкритому тиглі | Прилад ТВО-ЛАБ-01 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 4 | Кислотність | ASTM D3242 Standard Test Method for Acidity in Aviation Turbine Fuel *Стандартний метод визначення кислотності авіаційних палив* | Автоматичний титратор Metler Toledo SM Titrino702 |
| 5 | Концентрація фактичних смол | ГОСТ 8489-85 Топливо моторное. Метод определения фактических смол [по Бударову] *Паливо моторне. Метод визначення фактичних смол [по Бударову]* | Прилад ПОС-77 |
| 6 | Випробування на мідній пластинці | ДСТУ EN ISO 2160:2012 Нафтопродукти. Метод визначення корозійної дії на мідну пластинку | Прилад LOIP LB-200, еталонна шкала |
| 7 | Температура початку кристалізації | ГОСТ 5066–91 (ИСО 3013–74) Топлива моторные. Методы определения температуры помутнения, начала кристаллизации и кристаллизации (метод Б). *Палива моторні. Метод визначення темпе-ратури помутніння, початку крис-талізації і кристалізації (метод Б)* | Установка для визначення низькотемпературних властивостей нафтопродуктів, УТФ-70 |
| 8 | Термоокиснювальна стабільність у статичних умовах | ГОСТ 11802-88 Топливо для реактивных двигателей. Метод определения термоокислительной стабильности в статических условиях *Паливо для реактивних двигунів. Метод визначення термоокиснювальної стабільності в статичних умовах* | Прилад ЛСАРТ |
| 9 | Нижча теплота згорання | ГОСТ 21261-91 Нефтепродукты. Метод определения высшей теплоты сгорания и вычисление низшей теплоты сгорания *Нафтопродукти. Метод визначення вищої теплоти згорання та розрахунок нижчої теплоти згорання палив* | Розрахунковий метод |
| 10 | Детонаційна стійкість: октанове число за дослідним методом | ДСТУ 8737:2017 Паливо для двигунів. Дослідний метод визначення октанового числа | Установка УИТ-65 |

Точність експериментальних даних підтверджена збіжністю результатів випробувань, що знаходиться в межах нормативних значень згідно зі стандартами на методи випробувань.

Експериментально нами встановлено сильне збільшення кислотності, концентрації фактичних смол, температури спалаху, термоокиснювальної стабільності. Значення показників контрольних зразків не змінилося.

Випробування на мідній пластинці показало підвищену здатність до корозії уражених зразків понад нормативні значення цього показника. Відбувається підвищення температури кристалізації та зменшення температури спалаху до нормативних значень (таблиця 4.3).

*Таблиця* 4.2

**Зміна показників якості під впливом мікробіологічного ураження в паливах для ПРД**

| № | Найменування показника | ТС-1 | | РТ | | Jet A-1 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. |
| 1 | Кислотність, мг КОН на 100 $см^3$ | 0,2 | 6,8 | 0,2 | 6,5 | 0,1 | 6,6 |
| 2 | Концентрація фактичних смол, мг/100 см3 | 2,5 | 8,7 | 1,8 | 7,6 | 3,8 | 9,8 |
| 3 | Випробування на мідній пластинці, бали | 1 | 2а | 1 | 2а | 1 | 3а |
| 4 | Температура початку кристалізації, °С | мінус 61 | мінус 58 | мінус 59 | мінус 50 | мінус 51 | мінус 44 |
| 5 | Густина за температури 20 °С, кг/$м^3$ | 793 | 791 | 781 | 781 | 779 | 777 |
| 6 | Кінематична в'язкість за температури 20 °С, $мм^2$/с | 1,35 | 1,4 | 1,38 | 1,41 | 1,36 | 1,42 |
| 7 | Нижча теплота згорання, кДж/кг | 43313 | 43004 | 43254 | 42822 | 42911 | 42411 |
| 8 | Температура сплаху у відкритому тиглі, $^oC$ | 34 | 30 | 39 | 33 | 41 | 35 |
| 9 | Термоокиснювальна стабільність у статичних умовах, кількість осаду, мг на 100 $см^3$ | 9 | 15 | 4 | 12 | 3 | 10 |

*Таблиця 4.3*

**Зміна показників якості під впливом мікробіологічного ураження у реформульованого палива для ПРД марки ТС-1 (з додаванням ЕЕЖК)**

| № | Найменування показника | ТС-1 | | ТС-1 + 10% ЕЕЖК | | ТС-1 + 20% ЕЕЖК | | ТС-1 + 30% ЕЕЖК | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. |
| 1 | Кислотність, мг КОН на 100 см3 | 0,2 | 6,8 | 0,2 | 8,1 | 0,18 | 10,6 | 0,15 | 15,3 |
| 2 | Концентрація фактичних смол, мг/100 см3 | 2,5 | 8,7 | 2,5 | 9,2 | 2,8 | 11,8 | 3,4 | 14,5 |
| 3 | Випробування на мідній пластинці, бали | 1 | 2а | 1 | 2с | 1 | 3б | 1 | 4а |
| 4 | Температура початку кристалізації, оС | мінус 61 | мінус 58 | мінус 59 | мінус 55 | мінус 57 | мінус 54 | мінус 55 | мінус 51 |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | Густина за температури 20 оС, кг/м3 | 793 | 791 | 801 | 798 | 816 | 814 | 816 | 811 |
| 6 | Кінематична в'язкість за температури 20 °С, мм2/с | 1,3 | 1,35 | 1,58 | 1,64 | 1,82 | 2,1 | 2,25 | 2,32 |
| 7 | Нижча теплота згорання, кДж/кг | 43313 | 43004 | 43082 | 42657 | 42048 | 41292 | 41463 | 39354 |

Результати досліджень свідчать про значне збільшення кислотності (збільшення у 1,5–70,0 разів) досліджуваних зразків, окрім авіаційного бензина AVGAS 100LL. Отримані результати щодо значного зростання кислотності палив для ПРД схожі з результатами інших дослідників [65, 66].

*Таблиця 4.4*

**Зміна показників якості під впливом мікробіологічного забруднення в автомобільному бензині марки А-92 Євро та авіаційному бензині Avgas 100 LL**

| № | Найменування показника | А-92 | | А-92 +10%біоетанолу | | А-92 +15%біоетанолу | | Avgas 100 LL | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. | До ураж. | Після випр. |
| 1 | Кислотність, мг КОН на 100 см$^3$ | 0,09 | 2,32 | 0,1 | 1,9 | 0,1 | 2,1 | 0,05 | 0,07 |
| 2 | Концентрація фактичних смол, мг/100 см$^3$ | 5 | 11,8 | 1,6 | 3,8 | 1,8 | 5,5 | 1,2 | 1,4 |
| 3 | Випробування на мідній пластинці, бали | 1 | 2а | 1 | 2а | 1 | 2а | 1 | 1 |
| 4 | Октанове число: - дослідний метод | 92,5 | 90,8 | 92,7 | 92,0 | 93,0 | 92,0 | 99,6 | 99,6 |
| 5 | Густина за температури 15 $^o$С, кг/м$^3$ | 735 | 737 | 735 | 737 | 736 | 738 | 738 | 738 |

Найбільше збільшення кислотності спостерігається у реформульованого палива ТС-1, що опосередковано свідчить про активний розвиток мікроорганізмів. Найменше – в авіаційного бензина AVGAS 100LL, який як зазначено вище, має високий рівень біологічної стійкості.

Відомо, що кислотність – це показник, що характеризує вміст в паливах органічних кислот та вимірюється кількістю лугу, витраченого на їх

нейтралізацію [114]. З однієї сторони, органічні кислоти покращують протизносні та захисні властивості палив, з іншої – здійснюють вплив на корозійні властивості палив, зокрема на сумісність з експлуатаційними матеріалами. Тому в реактивних паливах, значення показника кислотності обмежують. Зростання кислотності пояснюється появою в паливі проміжних продуктів метаболізму (циклу Кребса) мікроорганізмів-нафтодеструкторів – оцтової, лимонної, цис-аконітової, фумарової, яблучної та щавлевооцтової кислот, які не усі встигають піддатися метаболізму мікроорганізмів та накопичуються в паливі.

За результатами досліджень встановлено збільшення концентрації фактичних смол (збільшення у 2,6–4,2 рази), що становить певні ризики для нормальної роботи двигуна через відкладення смолистих сполук на деталях паливної апаратури, на клапанах, у камері згорання, а також картері двигуна. Поява фактичних смол характеризує здатність палив до утворення низькотемпературних відкладень та відкладень окислювального характеру в камері згоряння, зменшується пропускна здатність палив проводів

Спостерігається значне (більше нормативного значення цього показника) збільшення цього показника в паливах для ПРД РТ, ТС-1, Jet A-1, автомобільному бензині А-92, реформульованому ТС-1.

Варто, зазначити, що вміст біоетанолу в автомобільному бензині А-92 здійснює фунгіцидний вплив, тому метаболізм мікроорганізмів-нафтодеструкторів відбувається повільніше. Фунгіцидний єфект триває недовго (лаг-фаза у випадку зміни основного субстрату), а потім бензин підлягає мікробіологічній деструкції, оскільки етанол – проміжний продукт аеробного та анаеробного окиснення вуглеводнів. У випадку аеробного окиснення етанол перетворюється на ацетальдегід, потім в ацетат, потім Ацентил-КоА, і далі – потрапляє в цикл Кребса.

Зменшення нижчої теплоти згорання свідчить про вплив мікробіологічного забруднення на показник енергетичної цінності палива – теплоту згорання. Серед компонентів палив для ПРД максимальну теплоту згорання мають алкани, потім циклани, далі ароматичні вуглеводні, цикланоароматичні та ненасичені. Тобто,

внаслідок зменшення алканів через доступність для метаболізму палива, знижується його енергетична цінність через зменшення теплоти згорання на 1–5 %.

Фільтрувальна здатність авіаційних палив за низьких температур як експлуатаційна характеристика характеризується комплексом фізико-хімічних явищ, що виникають у них за температури нижчої ніж 0 °С і регламентується показником температури кристалізації. Як бачимо з експериментальних даних табл. 4.3 та 4.4 змінення цього показника в бік погіршення може коливатись у межах 2–15%.

Здатність до відкладень у паливній системі характеризується показником термоокиснювальної стабільності реактивних палив. Щодо надійності авіаційної техніки та за результатами табл. 4.3 дійшли висновку про негативну тенденцію зміни цього показника в 1,3–3,5 разів.

Спостерігається підвищення на 2–4 % значення кінематичної в’язкості після мікробіологічного ураження палив (табл. 4.3, 4.4).

В умовах експлуатації техніки найчастіше під впливом палива з підвищеною кислотністю піддаються корозії деталі агрегатів паливної системи. Виконані дослідження демонструють зміну кислотності (рис. 4.1) палив у 1,5–70,0 разів (табл. 4.2−4.4) після біоураження. Проте було зафіксовано помірну тенденцію до збільшення кислотності у бензину з вмістом біоетанолу (табл. 4.4), ніж у попередньому дослідженні, через наявність спирту, що має певні антисептичні властивості та пригнічує розвиток мікрофлори у паливі. А наявність у складі авіаційного бензину Avgas 100 LL токсичного ТЕС перешкоджає розвитку мікроорганізмів, що підтверджує відсутність змін у показника.

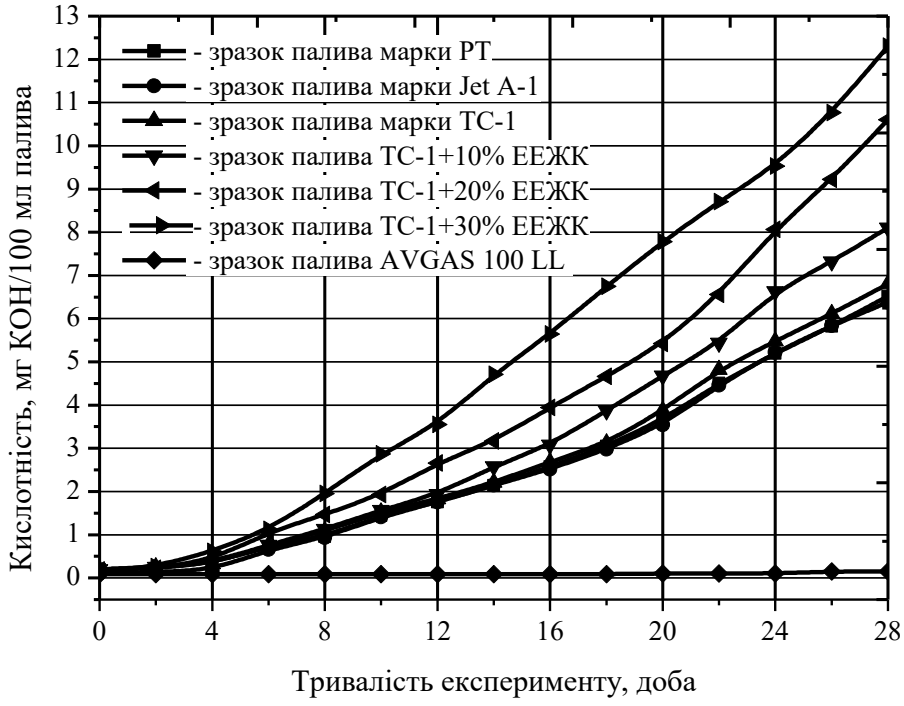



Рис. 4.1. Динаміка зміни кислотності досліджених авіаційних палив

Варто зазнчити зміну ОЧ бензинів (на 0,5–1,7 од.) (табл. 4.4). Загалом детонаційна стійкість вуглеводнів зростає у ряді: *н-парафінові-нафтенові-ненасичені-ароматичні*. А здатність до біодеструкції збільшується у зворотному напрямку, таким чином й спостерігається помірне зниження ОЧ. Найбільш стійким серед бензинів виявився авіаційний марки Avgas 100 LL.

## 4.2. Дослідження здатності комплексу мікроорганізмів, ізольованих із звалища транспортної інфраструктури міста Києва до деструкції гасу та дизельного палива

Усі об'єкти матеріального світу, зокрема промислові матеріали підлягають мікробіологічному ураженню (рис. 4.2) .

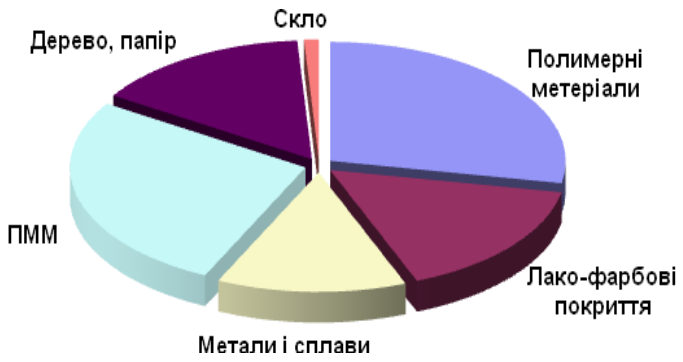



Рис. 4.2. Співвідношення біопошкодження промислових матеріалів [26].

Аналіз літературних джерел щодо біодеструкції нафтопродуктів, свідчить, що паливно-мастильні матеріали (ПММ) – це одна з найбільш нестійких до біоуражень продукція. Мікробіологічній деструкції підлягають практично усі види ПММ: моторні палива, оливи, мастила, мастильно-холодильні рідини, бітуми. Мікроорганізми – це специфічна форма існування живої матерії. Вони відрізняються чисельністю, різноманітністю форм, розповсюдженням, широкою сферою взаємодії з середовищем та масштабністю впливу на нього [27, 28]. На теперішній момент виявлено та ідентифіковано понад 150 видів мікроорганізмів, здатних до деструкції вуглеводнів [29]. Це властивість мікроорганізмів є вагомою проблемою в нафтовидобутку, нафтопереробці, нафтохімії і, особливо, під час використання нафтопродуктів. На сьогоднішній день вивчення проблеми біодеструкції вуглеводнів є досить актуальною. Дослідження показали, що мікроорганізми, що знаходяться у паливі, настільки всюдисущі та різноманітні, настільки здатні легко пристосовуватися до умов існування та видів нафтопродуктів, що повністю знищити їх неможливо. Тому згадана проблема буде залучати постійну увагу та вимагати великих затрат.

Бактерії класифіковано як прокаріотичні клітини, які у своїй будові мають цитоплазму, яка оточена цитоплазматичною мембраною, клітинну стінку, капсулу, джгутики, ворсинки тощо та характеризуються високою швидкістю розмноження. Відомо, що форма бактерій є видовою ознакою. Лінійні розміри бактерій складають у середньому 0,15–3 мкм [30].

Відомо, що гриби – різнорідна група еукаріотичних мікроорганізмів, які мають ядро з ядровою оболонкою, цитоплазму з органелами, цитоплазматичну мембрану та міцну клітинну стінку. Гриби складаються з довгих тонки нитеподібних волокон (гиф) заввтовши 5 мкм, що сплітаються в міцелій [30, 31]. Гриби – це специфічні рослинні організми, які не мають хлорофілу і не синтезують органічні речовини, Грибам потрібні для здійснення життєдіяльності готові органічні речовини.

Встановлено, що дріжджі – це мікроскопічні одноклітинні гриби, що розмножуються поділом або брунькуванням. Тобто термін «дріжджі» не має таксономічного значення. Розміри дріжджів становить: діаметр у найдрібніших у межах 1,5–2 мкм, діаметр у великих клітин у межах 8–10 мкм, довжина деяких видів може сягати 20–25 мкм [31].

Здійснення нормального метаболізму, росту та розмноження, можливе тільки у водному середовищі, що є характерною особливістю усіх мікроорганізмів, встановленою вченими.

Варто зазначити, що в процесі індивідуального розвитку мікрорганізму ферментна система для здійснення метаболізму може змінюватися. Наприклад, для бактерій ця властивість пластичного метаболізму є необхідною через дуже малий розмір клітини і неможливість вміщувати увесь можливий спектр ферментів [31].

Відомо, що під час зростання на поживному середовищі мікроорганізми проходять 5 фаз росту та розмноження, під час яких змінюються розміри клітин, швидкість розмноження, морфологічні та фізіологічні характеристики (рис. 4.3).

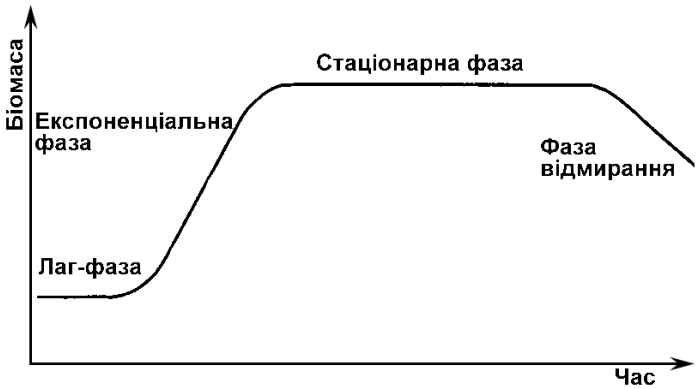


Рис. 4.3. Фази зростання мікроорганізмів на поживному середовищі [32]

Перша фаза – лаг-фаза – фаза пристосування, в цей час в клітинах підвищується вміст нуклеїнових сполук, що є свідченням активної підготовки та подальшому активному розмноженню. Друга фаза – експоненціальна – характеризується високою активністю розмноження клітин і обмежуючим чинником якої є кількість поживних речовин. Стаціонарна фаза (третя) – фаза помірного зростання, кількість новоутворених клітин дорівнює кількості відмираючих клітин. Фаза відмирання – остання – харатеризується зменшенням живих клітин через їх відмирання [31, 32]. За результатами ідентифікації багатьох вчених [27, 28, 33] основними представниками мікрорганізмів-деструкторі вуглеводнів є: 1) анаеробних і аеробних бактерій – *Achromobacter, Alcaligenes, Artrobacter, Bacillus, Bacterium, Brevibacterium, Citrobacter, Clostridium, Corynebacterium, Desulfovibrio, Enterobacter, Escherichia, Flavobacterium, Metanobacterium, Micrococcus, Micromonospora, Mycobacterium, Nicrococcus, Pseudomonas, Sarcina, Serratina, Spirillym, Vibrio, Thiobacillus*; 2) грибів (або мікроміцетів) – *Alternaria, Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Hormoconis resinae, Monacus floridanus, Phialophora sp., Cephalosporium, Penicillum;*

3) дріжджів – *Candida, Debaryomyces, Endomycopsis, Hansenula, Rhodotorula, Saccharomyces, Torula, Torulopsis, Trichoderma, Trichosporon*.

По відношенню до повітря мікроорганізми поділяються на дві групи: аеробні, що розвиваються в умовах доступу повітря, та анаеробні. що здатні розвиватися без доступа повітря. Тому процес розмноження мікроорганізмів може відбуватися на поверхні нафтопродукту і його товщі.

Багато вчених та дослідників відмічають, що міцеліальні гриби найчастіше зустрічається в авіаційних паливах і паливних системах й становлять небезпеку для нормального функціонування паливних систем.

На думку вчених [34], виділені з палива гриби можна за ступенем активності зростання (рис. 4.4) можна поділити на:

- активні деструктори;

- потенційні деструктори;

- частково адаптовані та випадкові види.

Активним представником грибів, так названим «керосиновим» грибом є *Hormoconis resinae* (рис. 4.5). У природних умовах цей гриб живе в грунтах субтропічної та тропічної зони. «Керосиновий гриб» – активний деструктор. Насьогодні наявна інформація щодо його присутності в зразках авіаційних палив з Австралії, у великій кількості – Бразилії та Каліфорнії, Великобританії, Данії, Індії, Сирії, Нігерії, Японії, Нової Зеландії [35, 36].

Мікроміцети

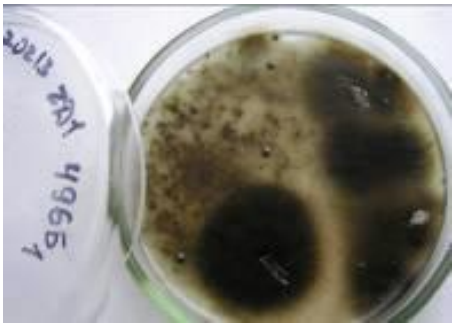
| **Активні деструктори** |
|---|
| Hormoconis resinae<br>Monascus floridanus |

| **Потенційні деструктори** |
|---|
| Altemaria altemata<br>Aspergillus ustus<br>Fusarium solani<br>Geotrichum candidum |

| **Частково адаптовані до середовища і випадкові види** | |
|---|---|
| Altemaria altemata<br>Aspegillus chevalieri<br>Aspegillus fumigatus<br>Aspegillus niger<br>Botryotrichum piluliferum<br>A. sydowii | Chromelosporium fulvum<br>Cladosporium bruhnei<br>C. macrocarpum<br>C. cladosporioides<br>Phoma eupyrena<br>Penicillium adametzii |

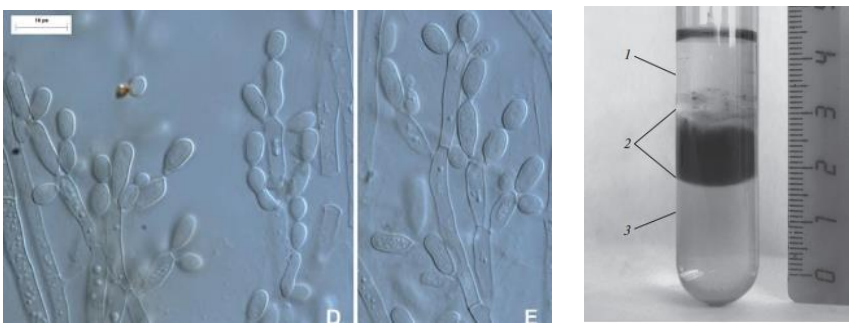
Рис. 4.4. Класифікація мікроорганізмів за активністю зростання в паливі

Активним представником грибів, так названим «керосиновим» грибом є *Hormoconis resinae* (рис. 4.5).



*а*

*б*

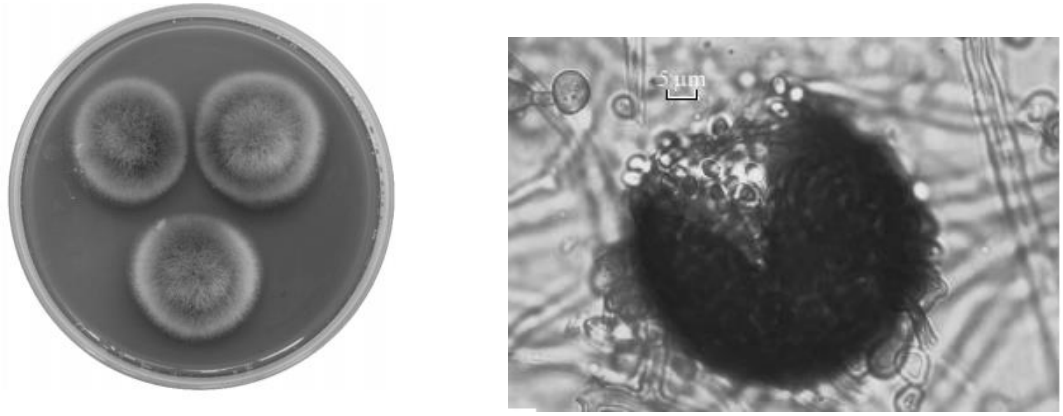



*в* *г*

Рис. 4.5. Вигляд *Hormoconis resinae: а* – в паливі ТС-1 [37], *б* – на поживному середовищі PDA [36], *в* – під мікроскопом [36], *г* - міцеліальний згусток після 1 місяця зростання в пробірці з паливом та поживним середовищем

У природних умовах цей гриб живе в грунтах субтропічної та тропічної зони. «Керосиновий гриб» – активний деструктор. Насьогодні наявна інформація щодо його присутності в зразках авіаційних палив з Австралії, у великій кількості – Бразилії та Каліфорнії, Великобританії, Данії, Індії, Сирії, Нігерії, Японії, Нової Зеландії [35, 36]. Очевидно, що розвиток авіації та географії польотів сприяє поширенню гриба в інших географічних зонах. В науковій літературі він відомий під іншими назвами: *Hormodendrum resinae*, *Cladosporium resinae*, *Amorphotheca resinae* [37].

Вченими був виділений та ідентифікований з фільтраційної системи літака ще один активний деструктор *Monascus floridanus* (рис. 4.6), що теж можна назвати «керосиновим» грибом.



*а* *б*

Рис. 4.6. Вигляд *Monascus floridanus* [38]: *а* – на агарі, *б* – під мікроскопом

Відомо, що мікроорганізми – це високоактивні організми, життєдіяльність яких здійснюється у відповідності до загальнобіологічного закону: чим менший розмір організму, тим інтенсивніший в нього обмін речовин. Ферменти мікроорганізмів здатні до впливу на великий об'єм поживного субстрату в одиницю часу. Мікроорганізми, які не мають відповідних ферментних систем для окиснення невідомого їм продукту, здатні в процесі пристосування до нового джерела живлення виробляти адаптивні ферменти [30].

Встановлено, що природно-кліматичні умови визначають чисельний та якісний склад мікроорганізмів та їх діяльність в середовищі існування. А швидкість розвитку та поширення мікроорганізмів, в свою чергу, залежить від таких чинників:

- кисень;
- волога;
- температура;
- поживні речовини;
- pH.

Мікроорганізмам для розвитку потрібна вільна вода, органічне джерело харчування, неорганічні поживні речовини, відповідна температура та відповідний pH для розвитку. Деяким потрібен кисень для здійснення метаболізму. Усі ці чинники можуть створюватися у засобах використання та зберігання авіаційних палив.

*Органічне середовище.* Нафтопродукти містять достатню кількість органічних поживних речовин для розвитку мікроорганізмів-нафтодеструкторів. Мікроорганізми, як правило, краще споживають низькомолекулярні (до $C_{18}$) аліфатичні вуглеводні з прямими ланцюгами. Здатність нафтопродуктів до біодеструкції має тенденцію збільшуватися зворотно пропорційно до вмісту ароматичних сполук та температури дистиляції. Тобто, средньодистилятні палива та бензини особливо схильні до біодеструкції та мають низький рівень біологічної стійкості [29, 39].

*Наявність вологи.* Вода – це критичний чинник розвитку та метаболічної активності мікроорганізмів в авіаційних паливах. Як зазначено вище, життєдіяльність мікрорганізмів залежить від води, так як вода складає 75-90% маси вегетативної клітини [30].

У нафтовій промисловості розрізняють три види води [40]:

1. вільна вода, складається з донної води та води, що накопичується в біоплівках (колоніях мікроорганізмів) на стінках резервуарів та трубопроводів;

2. емульгована вода розсіюється у вигляді краплин всередині палива, розмір яких становить від $3{,}9 \times 10^{-5}$ дюйма до $2{,}5 \times 10^{-2}$ дюйма;

3. розчинена вода, утворення якої в паливі відбувається з підвищенням температури;

Вільна вода потрапляє до палива з дощем (особливо в резервуарах з плаваючою крівлею), з баластної води морського судна, крізь протікаючи дефектні ущільнення та вентиляційні отвори в системі, залишків, що утворюються після зачищення резервуарів.

Волога у паливі також утворюється через перепад температур, з конденсату. Під час охолодження палива вода конденсується і на стінках та дні баків утворюються краплини вільної води. Наприклад, в паливних баках літаків волога конденсується на стінках баків.

Палива для повітряно-реактивних двигунів (ПРД) гігроскопічні. Під впливом зовнішніх чинників паливо здатне до поглинання вологи, яка може переходити з палива в навколишнє середовище або утворювати емульсію води у паливі. З часом краплини емульсійної води зливаються під впливом гравітаційних сил та утворюють відстійну воду. Розчинність води у паливі визначається багатьма чинниками, основні з яких – це температура, тиск, відносна вологість повітря, з яким зустрічається паливо, та вуглеводневий склад палива.

Кількість розчиненої води пов’язана з довжиною вуглеводневого ланцюга, наявністю ароматичних структур та температурою. Парафіни з коротким

ланцюгом розчиняють більше води ніж парафіни з довшим ланцюгом. На думку вченого Park P. B., керосин здатний до мікробіологічного ураження, зокрема, через властивість поглинати воду [41].

Вода, що наявна в зовнішньому середовищі, може бути доступною або недоступною. Встановлено, що ступінь доступності води для мікроорганізмів визначають показником активності води, який характеризує ступінь зв'язаності її молекул. Для чистої вільної води цей показник дорівнює одиниці, а для води, що знаходиться в певній взаємодії з іншими речовинами, менше одиниці. Отже, мікроорганізми можуть зростати в середовищах з коефіцієнтом доступності води в межах 0,6–0,9.

Після розмноження мікроорганізми в процесі біодеструкції вуглеводнів палив починають виділяти воду як один з кінцевих продуктів свого метаболізму. За результатами досліджень вчених, наприклад, *Hormoconis resinae* в процесі чотиритижневого розвитку може виділяти 0,94 г води на 1 л палива [42].

Деякі бактерії та спори грибів здатні виживати в зневодненому паливі від декількох місяців до декількох років (наприклад, *Hormoconis resinae)*. Виконі вченими [43] дослідження щодо виживання *Ps. aeruginosa* та спор гриба *Hormoconis resinae* в різних паливах без водної фази за температур 18–20°C, 28–30°C та 37°C показали, що *Ps. aeruginosa* не розвивається після висівання з палив через 1−2 тиждні, а спори *Hormoconis resinae* залишаються життєздатними у більшості палив тривалий час (табл. 4.5).

*Таблиця* 4.5

**Дослідження життєздатності грибів без водної фази**

| Паливо | Термін зберігання життєздатності, місяці | | |
|---|---|---|---|
| | 18–20°C | 28–30°C | 37°C |
| ТС-1 | 20 | 18 | 10 |
| Т-6 | 17 | 17 | 17 |
| РТ | 11 | 17 | 17 |
| Д-Л | 20 | 20 | 20 |
| А-93 | 10 | 6 | 6 |
| Б-70 | 1,5 | 5 | 3 |

Результати досліджень свідчать про витривалість спор гриба *Hormoconis resinae* в паливі за відсутності води, що становить загрозу його розвитку у випадку потрапляння вологи до палива та відповідної температури. Потрібно зазначити, що на момент виконання досліджень (70-ті роки минулого століття) в автомобільні бензини додавалась антидетонаційна присадка – тетраетисвинець, яка через свою токсичність перешкоджала збереженню життєздатності спор даного гриба.

*Кисень.* По відношенню до кисню мікроорганізми поділяються на дві групи: аеробні (здатні до розвитку в умовах доступу кисню) та анаеробні (розвиваються за умови відсутності кисню) .

Такі мікроорганізми як *Pseudomonas* використовують кисень для аеробного дихання, проте можуть використовувати нітрати для анаеробного дихання. Кисень присутній в резервуарах для зберігання палив. Керосин може містити більше 300 ppm розчиненого кисню. Для розвитку анаеробних мікроорганізмів, наприклад сульфатвідновлюючі бактерії SRB, кисень не потрібен для вироблення енергії. Сильне забруднення аеробними мікроорганізмами на днищі резервуару може привести до утворення біомаси з анаеробними умовами під нею.

*Неорганічні поживні речовини.* Азот, сірка, фосфор, калій, магній, кальцій, залізо, селен, цинк – це основні неорганічні поживні речовини, нобхідні для розвитку та метаболізму мікроорганізмів-нафтодеструкторів [30]. Хлорид натрія, вольфрам та нікель можуть бути теж необхідні мікроорганізмам. Вода, пил та паливні додатки можуть забезпечувати наявність таких поживних речовин [44].

*Ефект pH.* Встановлено, що більшість мікроорганізмів, здатних до деструкції вуглеводнів палив, розвиваються при нейтральному pH. Гриби розвиваються за pH 4–6, бактерії SRB найкраще усього зростають за pH 7,5 [45]. Рівень pH підтоварної води в резервуарах є безпечним середовищем для розвитку мікроорганізмів так як її рівень pH знаходиться в діапазоні 6–9.

Відомо, що вплив pH на мікробну клітину може бути прямим або опосередкованим. У випадку опосередкованого впливу, pH здійснює вплив на

поживні компоненти зовнішнього середовища, що, в свою чергу, впливає на проникненість цих компонентів в клітину мікроорганізму.

Рівень pH може впливати на розвиток різних видів мікроорганізмів у під товарній воді. Вчені Р. Нейгоф та М. Мей [46] вивчали види мікроорганізмів, що розвиваються в паливних баках на морських судах, де морська вода використовувалася в баластній системі суден та накопичувалась на днищі паливних баків. pH морської води становить 8. За результатами цих досліджень встановлено, що *Hormoconis resinae* розвивається в баках за наявності дріжджів *Candida sp*. *Candida sp.*продукує кислі метаболіти, які зменшують рівень pH. Ця здатність дріжджів створює умови для розвитку *Hormoconis resinae,* які погано розмножуються при лужному pH. Результати цих досліджень також показали, що низький рівень pH пригнічує розвиток бактерій-нафтодеструкторів, а високий рівень pH пригнічує розвиток грибів (табл. 4.6).

Зокрема встановлено, що деякі мікроорганізми-нафтодеструктори здатні за допомогою вироблення органічних кислот зменшити рівень pH, тим самим даючі можливість розмножуватися іншим мікроорганізмам-нафтодеструкторам [45].

*Таблиця* 4.6

**Вплив pH на розвиток мікроорганізмів-нафтодеструкторів**

| pH | Мікроорганізми, що інтенсивно розвиваються | Неактивні мікроорганізми | Мікроорганизми з пригніченим розвитком |
|---|---|---|---|
| <4 | Гриби та дріжджі | Нетипові бактерії | Бактерії, зокрема SRB |
| 4–8 | Гриби та дріжджі | Бактерії, SRB | - |
| > 8 | Бактерії SRB | Гриби | Гриби та дріжджі |

*Клімат.* Вологість повітря, кількість води в навколишньому середовищі залежить від географічного положення, клімату, зокрема кількості опадів. Вчений F. Passman [39] розробив критерії оцінювання ризику мікробіологічного ураження нафтопродуктів на основі середньорічної кількості осадів: низький (середньорічна кількість опадів становить 64 см), середній ризик (середньорічна кількість опадів – від 64 см до 190 см), високий ризик (середньорічна кількість опадів – більше 190 см) та кількості днів, коли це відбувається (низький ризик – менше 100 днів на

рік, середній ризик – від 100 до 200 днів на рік, високий ризик – більше 200 днів на рік).

*Біоплівка*. Відомо, що біоплівка – це сукупність мікроорганізмів, продуктів їх метаболізму на межі поділу фаз. Поява біоплівок − важливе явище, тому що на 1 $см^2$ плівки кількість мікроорганізмів в 200 разів більша, ніж в 1 $см^3$ навколишнього рідкого середовища [32]. Цей конгломерат характеризується чіткою взаємодією мікроорганізмів між собою та поверхнею, яку вони вкривають.

Відомо, що клітини мікроорганізмів не індивідуально знаходяться в просторі поживного середовища, а у вигляді специфічно організованих угруповань (біоплівок). Варто зазначити, що кількість мікроорганізмів в біоплівці складає 5−35%, інша частина – це міжклітинний матрікс.

Встановлено, що біоплівки є спільнотами мікробних клітин, які беруть участь в різних процесах, зокрема і промислових обростаннях. Клітини біоплівки знаходяться в гідратованому синтезованому самими мікроорганізмами матриксі. Призначення матрикса різноманітне: від забезпечення структурної жорсткості і забезпечення механічної стабільності, захисту від зовнішнього середовища до адсорбції поживних речовин. Автори також зазначають, що якісний та кількісний склад залежить від мікроорганізмів, що формують біоплівку, та від умов, в яких формується біоплівка. Вода є найбільшим компонентом матриксу біоплівки. Матрикс створює дуже гідратоване середовище, здатне значно довше утримувати вологу, ніж оточуюче середовище, тим самим, оберігаючи біоплівки від змін водного балансу. За висновком вчених, в природних умовах, склад біоплівкоутворюючих мікроорганізмів міжвидовий в більшості випадків [47].

Слід взяти до уваги, що біоплівка товщиною в 1 мм на стінках резервуара може здатися незначною, проте вона в 100 разів більше товщини багатьох грибів, і від 500 до 1000 разів більше шару багатьох бактерій. У мікросередовищі біоплівки, умови можуть значно відрізняються від тих, що в навколишньому середовищі.

Отже, можна уточнити попереднє визначення: біоплівка – це складна та щільна форма співіснування мікроорганізмів різних видів, що дає можливість

спростити метаболізм поживних речовин та захищає від зовнішнього негативного впливу.

З огляду на вищесказане та зазначені дослідження вчених, можна зробити висновок, що угруповання мікроорганізмів на межі поділу паливо-вода є біоплівкою. На нашу думку, тому біоплівки мікроорганізмів-нафтодеструкторів становлять небезпеку для паливних систем та засобів зберігання ПММ, враховуючі їх розмір, міцність та щільність.

Здатність до біологічної деструкції класів вуглеводнів залежить від фізіологічних властивостей конкретного мікроорганізму, зокрема від здатності до адаптованості його ферментативного апарату до умов середовища. Однак, багаточисленні дослідження, вказані вище, дозволяють класифікувати класи вуглеводнів за їх здатністю до біодеструкції (табл. 4.7) [48].

*Таблиця* 4.7

**Класифікація здатності вуглеводнів до біодеструкції**

| Група | Відношення до впливу мікроорганізмів | Ступінь біодеструкції, % до вхідному вмісту | Вуглеводні |
|---|---|---|---|
| I | Високочутливі | 80-100 | Н-алкани, ізо-алкани |
| II | Чутливі | 60-80 | Циклани з 6, 1, 5, 2 кільцям, S-ароматика, моноароматика |
| III | Помірночутливі | 45-60 | Циклоалкани з 3 та 4 кільцями, триароматичні |
| IV | Стійкі | 30-45 | Тетрааароматичні, стерани, тритерпани, нафтеноароматичні |
| V | Високостійкі | 0-30 | Пентааароматичні, асфальтени, смоли |

Таким чином, авіаційні палива складаються переважно з високочутливих та чутливих до мікробіологічного ураження вуглеводнів.

Для проведення досліджень використовувалися такі зразки:

– паливо для реактивних двигунів марки РТ (виробництва ПАТ «Укртатнафта», м. Кременчук), що відповідає вимогам ГСТУ 320.00149943.007-97;

– паливо для реактивних двигунів марки ТС-1 (виробництва ЗАТ «ЛИНИК»), що відповідає вимогам ГСТУ 320.00149943.001-99.

– паливо дизельне (виробництва ПАТ «Укртатнафта», м. Кременчук), що відповідає вимогам ДСТУ 7688:2015.

Дослідження проведені в акредитованій Випробувальній інтерактивнійлабораторії «АвіаТЕСТ» Національного авіаційного університету з дотриманням усіх нормативних вимог до виконання експериментів та оцінки достовірності результатів.

Біодеструкція вуглеводнів відбувається внутрішньоклітинно і здійснюється за рахунок специфічних окислювальних ферментів класу оксигеназ. Оксигенази каталізують використання одного атома кисню з його молекулярної форми в кінцевій метильний групі вуглеводню, тобтовідбувається заміна зв'язків зі слабкою енергією розриву (С–С, С–Н) зв'язками з сильною енергією розриву (С–О, Н–О). Такий спосіб окиснення відмічений для аліфатичних, ациклічних і ароматичних вуглеводнів [30, 49].

У результаті процесу біодеструкції відбувається руйнування, детоксикація, утилізація і мінералізація вуглеводнів нафтопродуктів, зокрема авіаційних палив. Оскільки до складу авіаційних палив входять багато легкозасвоюваних компонентів, у процесі біодеградації паливо виступає поживним субстратом (джерелом вуглецю та енергії) для цілого ряду мікроорганізмів.

Дані різноманітних досліджень щодо потрапляння в клітини мікроорганізмів, локалізація вуглеводневоокислюючих ферментів свідчать про процес окиснення вуглеводнів відбувається всередині клітини мікроорганізмів. Обмеження щодо окиснення вуглеводнів мікроорганізмами-нафтодеструкторами пов’язані з розчинністю вуглеводнів у воді.

Потрапляння поживного субстрату всередину клітини можливе з стану істинного розчину або під час безпосереднього контакту з ним. Від фізіологічних особливостей кожного роду мікроорганізмів залежить направленість процесу деструкції індивідуальних вуглеводнів і їх сумішей, які

мають різний ступінь стійкості до окиснення. Труднощі в поглинанні вуглеводнів мікроорганізмами пов'язані з їх нерозчинністю у воді. Для активації деструктивних ферментів необхідна якомога більша поверхня поділу фаз вуглеводень-вода.

Вуглеводні можуть руйнуватися мікроорганізмами досить швидко за анаеробних умов і надзвичайно повільно – за анаеробних.

Поживні речовини потрапляють до клітин мікроорганізмів-нафтодеструкторів через поверхню напівпроникної клітинної стінки та цитоплазматичної мембрани. Розрізняють наступні види транспорту вуглеводнів в клітини мікроорганізмів [43, 50]:

– пасивний транспорт:

а) пасивна дифузія – неспецифічне надходження речовин у клітину, при якому різноманітні сполуки проникають у клітину, не взаємодіючи з яким-небудь переносником, а рушійною силою цього процесу є градієнт концентрації поживної речовини, тобто різниця між їх концентрацією всередині клітини мікроорганізму та зовнішньому середовищі. Споживання клітиною мікроорганізму поживних речовин відбувається до вирівнювання їх концентрації за мембраною клітини та у зовнішньому середовищі, тобто за законами осмосу. Пасивна дифузія відбувається без витрати енергії, її швидкість невелика. Вода – це основна речовина, що потрапляє до клітини та вивільняється з неї за допомогою пасивної дифузії

б) полегшена дифузія – специфічний процес, при якому поживна речовина переноситься до клітини тільки за участі білка-переносника (пермеази) та залежить від градієнта концентрації поживних речовин.

Пермеази мають субстратну специфічність, тобто переносять конкретні поживні речовини всередину клітини мікроорганізму. При цьому швидкість надходження речовин залежить від їх концентрації. Обмін продуктами метаболізму мікроорганізму відбувається за допомогою цього процесу.

– активний транспорт – речовина надходить в клітину незалежно від градієнту концентрації поживних речовин в середовищі; процес потребує затрат енергії (АТФ ($C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3$) – аденозинтрифосфат або аденозинтрифосфорна кислота – універсальне джерело енергії для біохімічних процесів) і відбувається з допомогою специфічних білків-переносників (пермеаз) [51]. Під час цього процесу швидкість потрапляння речовин до клітини може бути максимальною за малих концентрацій поживних речовин у зовнішньому середовищі.

Для більшості мікроорганізмів-нафтодеструкторів властивий процес активного транспорту, вихід продуктів метаболізму відбувається за допомогою полегшеної дифузії. Всі реакції мікробіологічного перетворення вуглеводнів є окислювально-відновлювальними. Гранична відновлюваність цих речовин робить необхідними для їх окиснення присутність кисню.

Гідрофобність молекули вуглеводню має велике значення для хімізму їх мікробіологічного окиснення та їх транспорту в клітину мікроорганізма-нафтодеструктора. Гідрофобний характер молекули є причиною того, що процеси окиснення здійснюються оксигеназами, на відміну від окиснення більш гідрофільних речовин, яке відбувається під дією дегідрогеназ.

Гідрофобність вуглеводневих субстратів та їх погана розчинність в воді визначають шляхи потрапляння речовин в клітину.

Варто зазначити, що характерною особливістю процесу асиміляції вуглеводнів як джерела вуглецю є нагромадження проміжних продуктів.

На біодеструкцію аліфатичних вуглеводнів впливають не тільки їх фізико-хімічні властивості – такі як розчинність у воді, здатність до емульгування і величина поверхневого натягу, але й біологічні фактори – ферментативна активність мікроорганізмів, реакційна здатність субстрату.

*Окиснення парафінів*. Авіаційні та дизельні палива – це середньо дистилятні нафтові фракції. Вони містять вуглеводні різних класів, гетеро атомні сполуки та неорганічні домішки. Вуглеводневий склад палив для

реактивної авіації складається з різних класів вуглеводнів [40], серед якихнайпоширенішими є парафіни.

За результатами багатьох досліджень, парафіни є найбільш нестійким до мікробіологічного ураження класом вуглеводнів, особливо парафіни нормальної будови.

На думку вчених, процесу ферментативного окиснення підлягають вуглеводні з середньою довжиною ланцюга ($C_5$ – $C_{15}$), в свою чергу легкі н-алкани здатні поглинати лише деякі види бактерій (наприклад, Pseudomonas), так як вони розчиняють ліпіди бактеріальних клітин і викликають розчинення цитоплазматичної мембрани.

У переважаючій більшості випадків первинної ферментативної атаки молекули н-парафіна відбувається окиснення термінального атома вуглеводню. Багато вчених представляють реакцій біологічного окиснення н-парафінів таким чином [52]:

$$R\text{-}CH_2\text{-}CH_3+[O_2]\rightarrow R\text{-}CH_2\text{-}CH_2OH\text{-}2H\rightarrow R\text{-}CH_2\text{-}CHO\text{-}2H+HOH\rightarrow R\text{-}CH_2\text{-}COOH.$$

Першими стабільними продуктами окиснення вуглеводнів є первинні спирти. Наступний етап складають звичайні біологічні перетворення спирту в альдегід і альдегіду в кислоту.

Найбільш поширений та описаний шлях окиснення н-алканів мікроорганізмами включає три основних етапи:

1. первинне окиснення н-алкану, яке призводить до послідовного утворення відповідного спирту, альдегіду і карбонових кислот жирного ряду;

2. бета-окиснення цих кислот з утворенням в якості основного проміжного продукту ацетил-КоА;

4. окиснення ацетату в циклі трикарбонових кислот.

Під час біодеструкції н-алканів термінальним шляхом, відбувається окиснення кінцевої метильної групи з утворенням первинного спирту.

Первинний спирт перетворюється в альдегід, а потім під дією НАД-залежних дегідрогеназ окиснюється до відповідних жирних кислот, які в

подальшому розкладаються шляхом β-окиснення або використовуються клітиною в якості будівельного матеріалу.

Під час перетворення карбонових кислот ЦТК мікроорганізми-нафтодеструктори використовують кофермент ФАД – флавінаденіндинуклеотид ($C_{27}H_{33}P_2N_9O_{15}$) – кофермент, що бере участь в багатьох окиснювально-відновлювальних біохімічних процесах. ФАД може існувати в окисненій формі ФАД+ та відновленій – ФАДН. Однією особливістю ФАД у порівнянні з НАД, є те, що він не переносить електронів, дифундуючи від одного ферменту до іншого. ФАД переважно міцно приєднується до білка і надає йому можливість утримувати електрони під часїх перенесення від донора до акцептора [50].

Результат циклу Кребса полягає в синтезі невеликої кількості аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) та НАДН. АТФ – це нуклеотид, який бере участь в енергетичному обміні у всіх живих організмах, у процесах зростання, руху та відтворення.

Деякі вчені експериментально підтвердили для деяких видів мікроорганізмів, що разом з класичним β-окисненням жирних кислот, утворених після біотрансформації н-алканів, можуть відбуватися інші шляхи окиснення жирних кислот [43, 53]:

1. ω-гідроксилирування, що призводить спочатку до ω-оксикарбонових кислот, потім дикарбонових кислот з подальшою їх трансформацією;

2. α-окиснення, декарбоксилювання, котре відбувається у випадках, коли субтермінальний атом вуглецю має кетогруппу або гідроксил;

3. дегідрогенізація жирних кислот з наступним окислювальним розщепленням подвійного зв’язку.

Ізоалкани більш стійкі до мікробіологічного ураження, ніж н-алкани. Проте вченими виявлено, що монометилалкани швидше піддаються мікробіологічному ураженню ніж відповідні алкани нормальної будови.

Стійкість до мікробіологічного ураження для ізоалканів збільшується в ряді: монометилалкани-поліметилалкани-ізоалкани з етильним або більш високомолекулярним замісником [54].

*Окиснення олефінів*. Олефіни піддіються мікробіологічному ураженню достатньо легко. Описано достатню кількість мікроорганізмів, що використовують олефіни як субстрат для свого розвитку [27, 52]. Механізм біодеструкції олефінів вивчений менше, ніж у парафінів. За результатами багатьох досліджень встановлено, що ферментні системи мікроорганізмів під час окиснення олефінів утворюють насичені киснем сполуки з подвійним зв'язком [52]. Оскільки продуктом розкладання вуглеводнів є тетрадеценова кислота, то мікробіологічне окиснення олефінів починається з метальної групи.

Мікробіологічне окиснення олефінів включає наступні реакції [43]:

а) окиснення метальної групи з утворенням ненасичених кислот;

б) утворення епоксидів по подвійному зв'язку;

в) утворення діолів.

Ці ненасичені вуглеводні можуть окиснюватись одночасно і по метальній групі і по подвійному зв'зку молекули. Численні дослідження по окисленню олефінів дріжджами і грибами також свідчать про наявність термінального і субтермінального окиснення, в результаті чого утворюються відповідні ώ-ненасичені кислоти, насиченікислоти, ώ-ненасичені спирти, епоксиди , діоли.

*Окиснення циклоалканів*. У порівнянні з алканами циклоалкани важче піддаються мікробіологічному ураженню через наявність циклу, який важче окиснюється. До штамів, які здатні до біодеградації циклічних алканів, відносяться бактерії родів Cordonia, Xanthobacter та ін. Штами, які здатні до біодеструкції циклоалканів, мають специфічні ферментні системи, що відрізняються від ферментних систем, що використовуються мікроорганізмами для окиснення нециклічних алканів. Бактерія Micobacterium vaccae, що здатен

засвоювати, зокрема ізоалкани, зокрема 2-метилбутан, окиснює циклічні алкани до відповідних кетонів (рис. 4.7, 4.8)

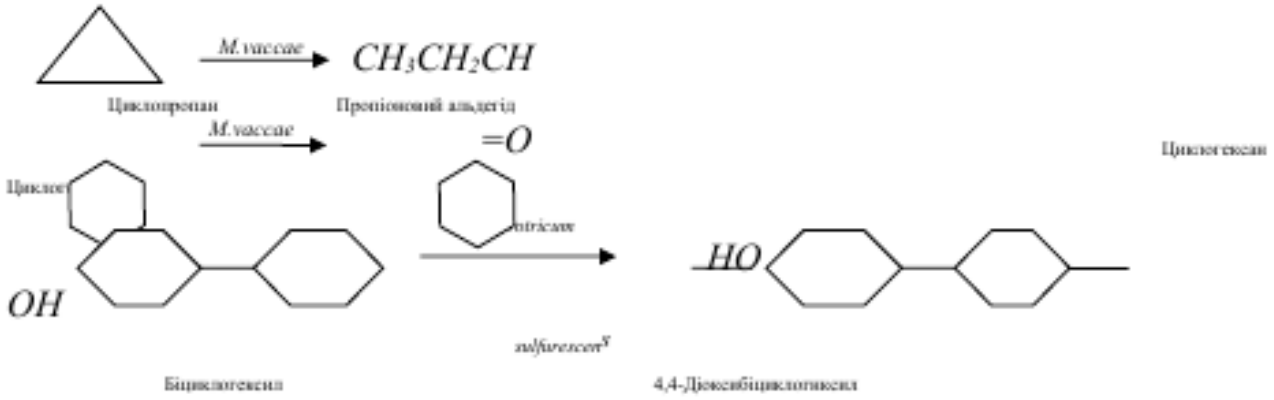



Рис. 4.7. Схема реакцій окиснення циклопропану

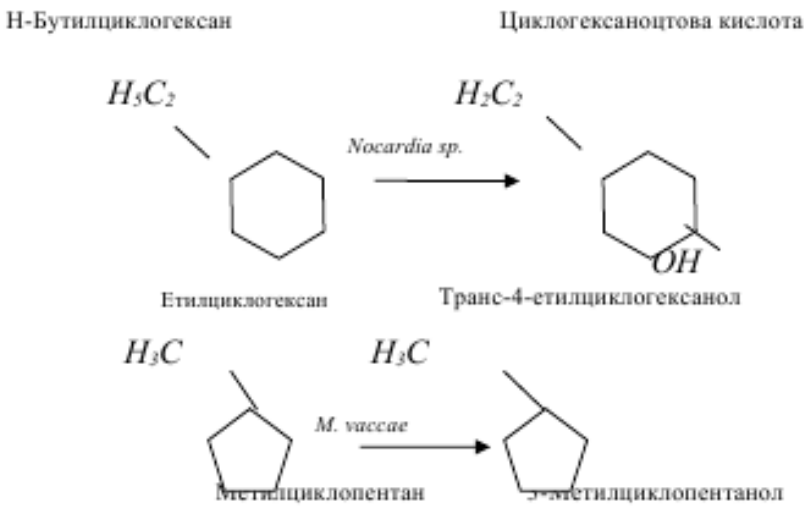



Рис. 4.8. Схема реакцій окиснення н-бутилциклогексану, етил циклогексану і метил циклопентану

Механізм окиснення циклогексану за участі ферментів представлений на рис. 4.9.

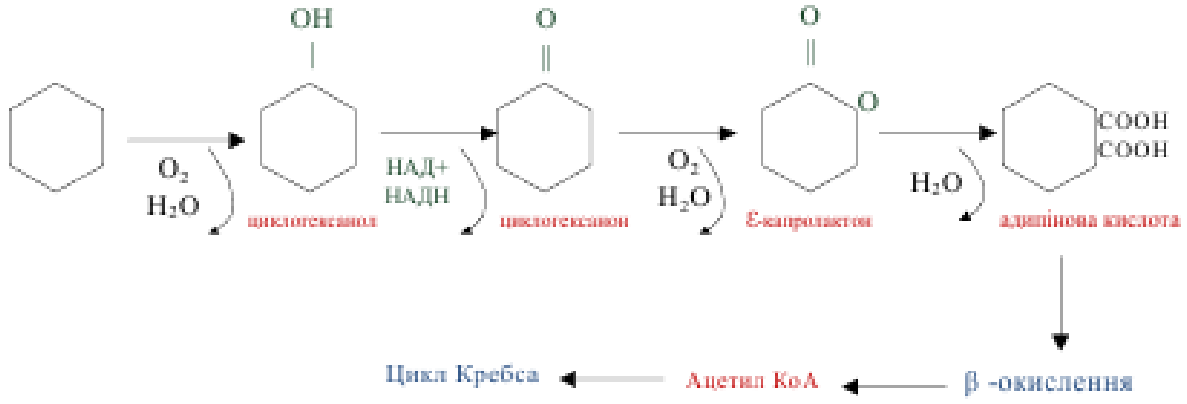



Рис. 4.9. Механізм мікробіологчіного окиснення циклогексану

На першому етапі за участі ферментів групи оксигеназ циклоалканове кільце трансформується у відповідний спирт, який в подальшому під дією гідрогенази перетворюється в кетон. Подальше окиснення каталізує інша монооксигеназна система і відбувається включення атома кисню в ядро.

Отримана структура лактона деградує під впливом лактонгідролази. Кінцеві речовини перетворюються в більш прості сполуки і засвоюються мікроорганізмами за допомогою циклу Кребса [43].

Заміщені циклоалкани легше піддаються біологічній деструкції, ніж незаміщені, особливо, якщо заміщаючою групою є н-алкан відповідної довжини. В такому випадку в першу чергу мікробіологічній атаці піддається заміщаюча група, потім утворюється проміжний продукт циклогексанової карбонової кислоти або близьких сполук. В свою чергу, біодеградація отриманої циклогексанового карбонової кислоти передбачає утворення ароматичного проміжного з'єднання, після чого відбувається розщепленняароматичної кільцевої структури [43].

*Окиснення ароматичних вуглеводнів.* Ароматичні вуглеводні більш стійкіші до мікробіологічної деструкції, ніж парафіни та олефіни. Більшість ароматичних вуглеводнів є фунгіцидами по відношенню до мікроорганізмів, вони порушують пропускну здатність мембран клітин мікророорганізмів, інгібують синтез білка та хітину [55]. Незважаючи на високу

токсичність даної групи вуглеводнів, все ж існують мікроорганізми здатні використовувати ці сполуки в якості джерела живлення.

Біодеградація ароматичних сполук відбувається за допомогою оксігеназних реакцій, в результаті яких утворюються оксиароматичні сполуки: пірокатехин (катехол), протокатехова кислота та ін. Трансформації до пірокатехіна підлягають сполуки, у яких в кільці є один або два замісники в положеннях 1 і 2. Арени з двома замісниками в положеннях 1,3 або 1,4, а також з великим числом заміщуючих груп розкладаються з утворенням протокатехової кислоти. В усіх випадках в кільце вводяться гідроксигрупи.

Атоми кисню для гідроксигруп доставляє молекулярний кисень. У разі нефенольних ароматичних речовин необхідна для розриву кільця 1,2-дігідроксібензольная структура створюється шляхом подвійного гідроксилирування.

Мікроорганізми-нафтодеструктори – це специфічні мікроорганізми, які комплексно впливають безпосередньо на якість самого нафтопродукту (авіаційного та дизельного палива) та засоби його використання. Головними чинниками є здатність до відтворення та розмноження, а також пристосовуваність до різних умов середовища.

Особливої актуальності дане питання набуває в контексті глобалізація ринку нафтопродуктопостачання та авіаційного сполучення. Розуміння видового складу мікробіологічного забруднення та закономірності його розвитку дасть змогу обрати ефективні шляхи та засоби для попередження або ліквідації їх появи в авіаційних паливах.

Встановлено, що поширення мікроорганізмів в природі обумовлене їх біологічними особливостями [31, 32, 56]:

− швидкістю розмноження: за сприятливих умовах клітини багатьох бактерій діляться через кожні 20−30 хв.;

− відносно високою стійкістю до дії різноманітних фізичних і хімічних факторів - високої і низької температури, дії різного роду випромінювань, висушування, високому осмотичного тиску, нестачі вологи тощо;

– виключно легкої пристосовуваністю до умов навколишнього середовища;

– надзвичайно великим різноманіттям фізіологічних властивостей, завдяки чому вони можуть використовувати для харчування або отримання енергії практично всі природні сполуки, жити і розмножуватися там, де інші живі істоти жити не можуть.

Встановлено, що вода – основний чинник здійснення нормальної життєдіяльності мікроорганізмів. Для метаболізму та отримання енергії для існування вони також повинні отримувати з поживного середовища в необхідних кількостях усі елементи, що містяться в їх клітинах. І залежно від того, які елементи надходять в клітину з речовин поживного середовища, останні називають джерелами вуглецю, азоту, фосфору, сірки тощо.

Отже, для мікроорганізмів-нафтодеструкторів нафтові вуглеводні – це, в першу чергу, джерело вуглецю. Також потрібно звернути увагу на складові будови клітин мікроорганізмів. Відомо, що компонентами мікроорганізмів є, як вище зазначено, вода (75–90% маси вегетативної клітини), мінеральні речовини та органічні сполуки – білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи та ліпиди. Білки складають 40–80% маси мікроорганізму та складаються з тих самих амінокислот, що властиві рослинам та тваринам [31, 32]. Звернення уваги на білки пояснюється можливістю використання їх у якості біологічного маркера мікроорганізмів-нафтодеструкторів.

*Здатність мікроскопічних грибів розвиватися в паливі для реактивних двигунів.* В умовах експерименту використані нами тест-культури мікроскопічних грибів, ізольовані із ґрунту, забрудненого паливом ТС-1, проявили різну здатність щодо росту в чистому паливі для ПРД (ТС-1) (табл. 4.8).

Більшість з тест-культур грибів розвивалися як в мінеральному середовищі, так і на розділі фаз «мінеральне середовище – паливо», формували на вказаному розділі фаз плівку, утворювали окремі колонії або суцільне щільне міцеліальне кільце (рис. 4.10).

*Таблиця* 4.8

**Характеристика особливостей росту тест–культур грибів в умовах експерименту**

| Ізоляти мікроскопічних грибів, № ізоляту | Прозорість мінерально-го середовища | Зміна кольору мінера-льного середовища | Ріст грибів у мінераль-ному середовищі | Плівка на межі фаз* | Колонії грибів на розділі фаз* | Ріст грибів у паливі | Наявність осаду |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Alternaria* sp. К3 | – | – | + | + | + | +** | + |
| *Aspergillus niger* К4 | – | – | + | + | + | – | + |
| *Aspergillus* sp. К8 | + | – | – | + | – | +** | + |
| *Cladosporium* sp. К1 | – | + | + | + | + | + | + |
| *Cladosporium* sp. К4 | – | – | + | + | + | + | + |
| *Cladosporium* sp. К6 | + | – | – | + | + | – | + |
| *Hormoconis resinae* К1 | – | – | + | + | + | +** | + |
| *Penicillium* sp.К3 | + | – | – | + | – | +** | + |
| *Penicillium sp.* К2 | + | – | + | + | – | +** | + |
| *Trichoderma sp.* К5 | – | + | | + | + | – | + |

*Примітка*: * – межа між фазами «мінеральне середовище» та «пальне»;
** – обростання міцелієм грибів стінок пробірок у фазі «паливо»

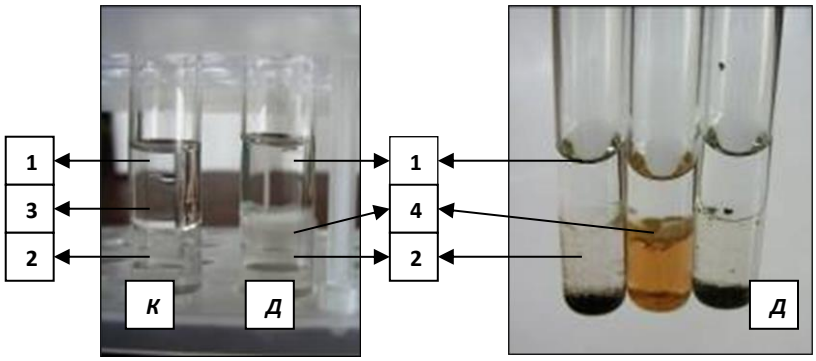



Рис. 4.10. Розвиток тест-культур мікроскопічних грибів в умовах експерименту: 1– фаза «паливо», 2 – фаза «мінеральне середовище», 3 – межа розділу фаз «паливо –мінеральне середовище», 4 – щільна плівка із колоній грибів на розділі фаз «паливо –мінеральне середовище» та у паливі; Д – дослідні варіанти експерименту, К – контрольний варіант експерименту (без додавання суспензії тест-культур грибів

Розвиток частини тест–культур грибів в умовах проведеного дослідження супроводжувався утворенням колоній грибів у мінеральній фазі у вигляді щільних згустків (пеллет). Кілька тест–культур мікроміцетів окрім плівки та грибних колоній на розділі фаз формували також візуально добре помітний непрозорий міцеліальний нальот на стінках пробірок у фазі «паливо».

Утворення міцеліальної плівки на межі фаз спостерігалося у всіх культур (рис 4.11). Це свідчить про їх здатність до росту на авіаційному паливі.

Рис. 4.11. Утворення щільної міцеліальної плівки на межі фаз паливо-мінеральне середовище грибом *Hormoconis resinae* 496/Б1

Зміну кольору мінерального середовища спостерігали під час розвитку мікроскопічних грибів *Trichoderma* К5, *Cladosporium* К1 та *Cladosporium* К6 (рис. 4.12).

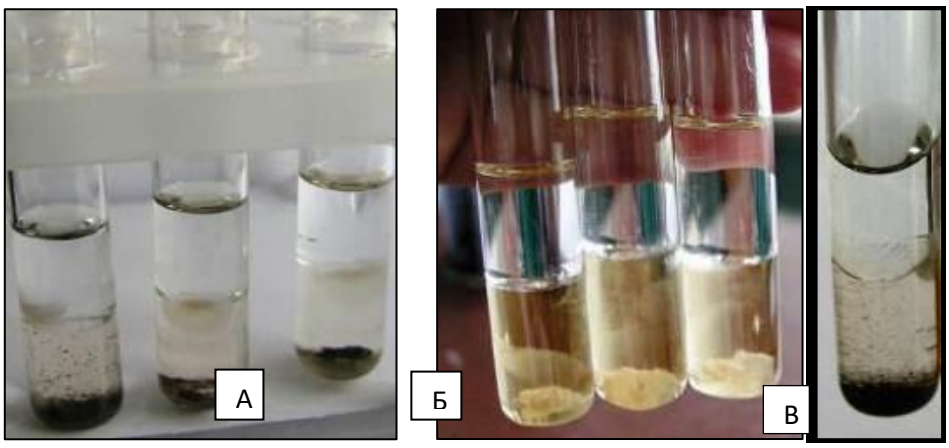



Рис. 4.12. Зміна кольору мінерального середовища в результаті розвитку тест-культур грибів: А - *Cladosporium* К6, Б - *Trichoderma* К5, В - *Cladosporium* К1

*Визначення біологічної стабільності моторних палив*. Біологічну стабільність моторних виконувалась згідно вимог ГОСТ 9.023 [57] та стандартної методики МЕК-1954.

Сутність методики полягає в інкубації палива з поживним середовищем, ураженого сумішшю мікроорганізмів, протягом 28 днів за температури 28−32 °С. Як грибні культури використано гриби:

1. Aspergillus niger.
2. Aspergillus amstelodami.
3. Hormoconis resinae.
4. Aspergillus fumigatos.
5. Penicillium citrinum.
6. Chaetomium globosum.
7. Paecylomyces varioti.
8. Monaskus floridanus.

У природних умовах мікробіологічне ураження відбувається комплексом мікроорганізмів, тому у дослідженні використано суміш грибів.

Оцінка ступеня біоураження після завершення терміну дослідження визначається в балах (табл. 4.9) з врахуванням площі біоураження. Критерієм біостійкості були прозорість зразка та відсутність пігментації, кількість балів –

«0», тобто чим більша кількість балів, тим менш біостійкий досліджуваний зразок.

*Таблиця 4.9*

**Оцінка ступеня біостійкості досліджуваного зразка**

| Характеристика стану зразка | Бали |
|---|---|
| Повна відсутність зростання мікроорганізму на зразку | 0 |
| Ледь помітне зростання, окремі осередки | 1 |
| Слабке зростання мікроорганізмів | 2 |
| Помірне зростання, початок спороношення | 3 |
| Поверхня зразка воністю уражена мікроорганізмами, рясне спороношення | 4 |
| Повне ураження зразка, зміна кольору | 5 |

Дослідження виконано в чашках Петрі за температури 30 °С. Досліджувалися контрольні (незаражені) зразки та заражені грибами зразки авіаційних палив та дизеля. Дослідження виконані 8 разів для необхідної відтворюваності результатів. Контрольні зразки залишилися чистими і прозорими, що свідчить про правильність виконання дослідження. для уражених зразків моторних палив, окрім авіаційного бензину, дослідження завершилися в значно коротший термін – до 20 діб (рис. 4.13).

Результати дослідження свідчать про низький рівень стійкості до мікробіологічного ураження моторних палив, окрім авіаційного бензину AVGAS 100 LL. Отримані результати показали, що на поживному середовищі з автомобільним бензином найшвидше відбулося розростання мікроорганізмів.

Досліджувані палива для ПРД та дизельнепаливо не стійкі до мікробіологічного ураження, до 18-ої доби уся поверхня поживних середовищ чашок Петрі з досліджуваними зразками палив була уражена мікроорганізмами та відбулася зміна їх кольору (табл. 4.10).

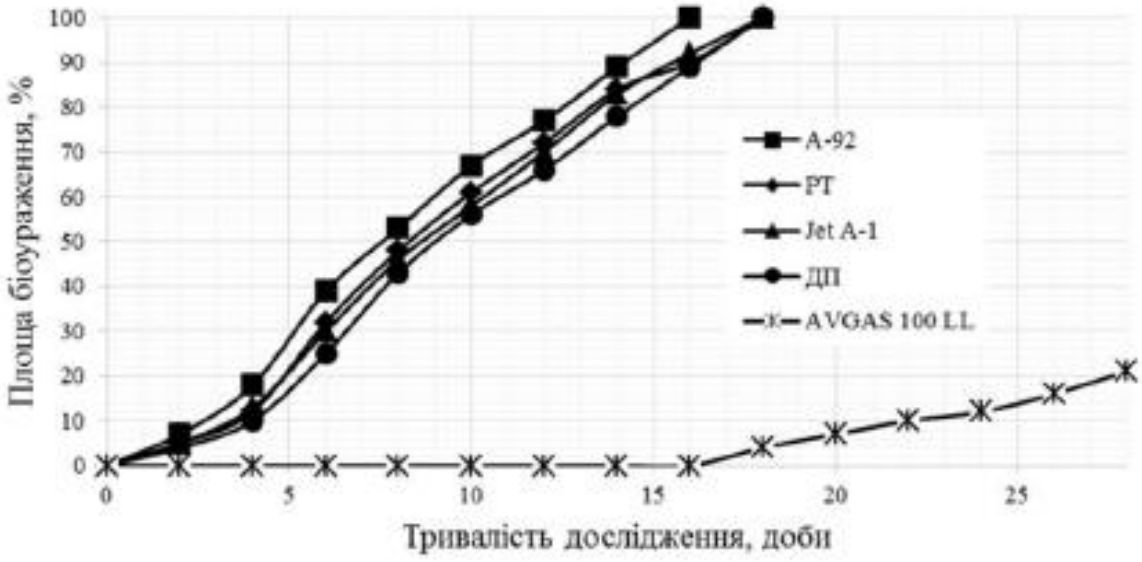



Рис. 4.13. Порівняльна оцінка здатності до біодеградації зразків моторних палив

Авіаційний бензин AVGAS 100LL виявився самим стійкішим до ураження, на поверхні поживного середовища з авіаційним бензином не відбулося активного розростання мікроорганізмів, спостерігалося ледь помітне зростання у вигляді окремого осередку після встановленого терміну дослідження (28 днів).

*Таблиця 4.10*

**Оцінка ступеня біоураження моторих палив**

| Марка палива | Бали |
|---|---|
| Автомобільинй бензин А-92 | 5 |
| Авіаційне паливо марки РТ | 4 |
| Авіаційне паливо марки Jet A-1 | 3 |
| Дизельне паливо | 2 |
| Авіаційний бензин AVGAS 100LL | 1 |

За швидкістю поширення мікробіологічного зараження з врахуванням бальної оцінки ступеня біоураження досліджувані зразки моторних палив можна проранжовати (у порядку зростання рівня стійкості) у такий ряд: автомобільний бензин – паливо для реактивних двигунів – дизельне паливо – авіаційний бензин.

На думку багатьох вчених та дослідників, використання біопалив – трендсучасного паливозабезпечення [58−60]. Авіаційні біопалива або авіаційні альтернативні палива − це суміш традиційного нафтового палива для повітряно-реактивних двигунів (ПРД) та біокомпоненту, в якості якого використано етилові естери жирних кислот (ЕЕЖК) рослинних олій. Один з етапів для отримання допуску до виробництва та використання цей вид авіаційного палива повинен пройти кваліфікаційні випробування. Визначення біостійкості − обов'язкове дослідження нових експлуатаційних матеріалів.

Дослідження палива ТС-1 з вмістом ЕЕЖК у концентрації 10%, 20%, 30% (реформульованого) та безпосередньо біокомпоненту ЕЕЖК нами виконано за вище описаною методикою.

Результати досліджень представлено на рис. 4.14. Результати свідчать, що біокомпонент – уразлива до мікроорганізмів речовина. Вміст біокомпоненту (10%, 20%, 30%) пришвидшує розвиток мікробіологічної фази. У порівнянні з нафтовим паливом ТС-1 поширення розвитку мікроорганізмів для 10−20% реформульованого ТС-1 відбувається швидше на 12%, для 30% реформульованого ТС-1 – на 23%. Біокомпонет ЕЕЖК піддається біодеструкції на 45% швидше звичайного ТС-1.

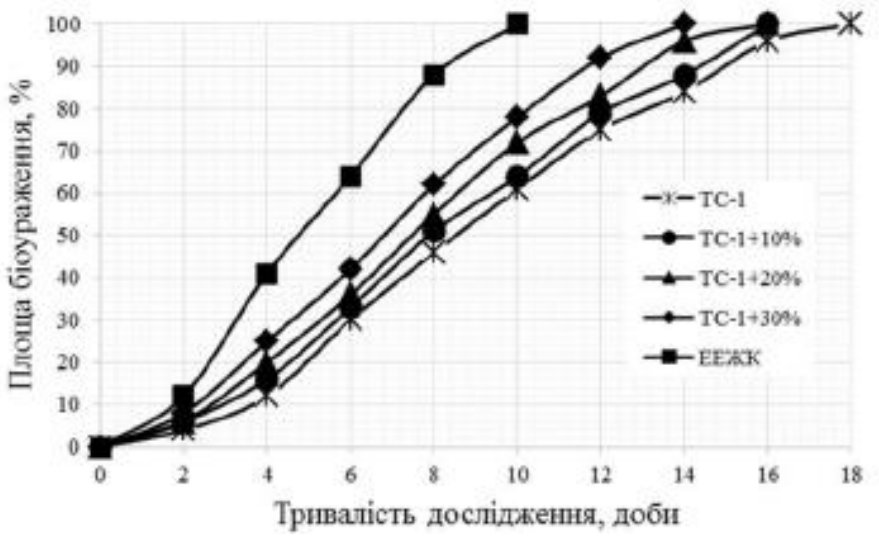



Рис. 4.14. Порівняльна оцінка здатності до біодеградації традиційного палива марки ТС-1 і реформульованого (сумішевого ТС-1 із вмістом ЕЕЖК)

Здатність біокомпоненту до біодеградації виконаного нами одслідження відповідає результатам досліджень інших вчених [61, 62].

Отже, результати проведених нами досліджень свідчать, що використані нами тест-культури мікроскопічних грибів можуть активно розвиватися в паливі для ПРД, автомобільному та авіаційних бензинах, дизельному паливі. Серед мікроміцетів, що ізольовані із забрудненого авіаційним паливом ґрунту, більша частина тест-культур проявили здатність в умовах експерименту рости у паливній фазі, що свідчить про адаптацію цих грибів до існування в присутності такого джерела вуглецю, як складні вуглеводні.

### 4.3. Алгоритм та методика виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування

Біодеградація є результатом ряду фізичних, хімічних і біохімічних процесів. Процес біодеградації має певні особливості для різних об'єктів. Враховуючи багатокомпонентність складу звалищ об’єктів транспортної інфраструктури м. Києва та взаємний вплив компонентів на розвиток видового складу мікроорганізмів потрібно чітко визначити методику відбирання зразків для досліджень та порядок виділення мікроорганізмів. Таким чином, алгоритм виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування складається з таких етапів (рис. 4.15).

Для біодеградації експлуатаційних матеріалів, що використовуються в транспортній системі, та харчових відходів в навколишньому середовищу біологічної середовищем є грунт, компостуючі системи, водомісні системи, в яких

крім інших речовин містяться різні мікроорганізми, характерні для цього середовища (наприклад, грунтові бактерії, гриби та ін.).

Виділення чистої культури передбачає проведення трьох етапів (рис. 4.16.):

1) отримання накопичувальної культури;

2) виділення чистої культури;

3) визначення чистоти виділеної культури.

Рис. 4.15. Алгоритм виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування

Рис. 4.16. Алгоритм виділення чистої культури

В умовах природного існування чисті культури мікроорганізмів зустрічаються досить рідко. Проте, основна частина даних щодо властивості мікроорганізмів до біодеградації, а також їхніх взаєминах отримана за допомогою вивчення чистих культур. Тому абсолютно необхідним завданням є виділення чистих культур різних видів мікроорганізмів, що існують на сміттєзвалищах транспортної інфраструктури. Чистої культурою мікроорганізмів називають популяцію мікроорганізмів одного виду, що представляє потомство однієї клітини.

Об’єктом дослідження були зразки, відібрані на сміттєзвалищах транспортної інфраструктури м. Києва та Київської області. Характеристика проб та опис міста відбору надано в таблиці 4.11.

Таблиця 4.11

**Місце відбору та характеристика відібраних проб**

| № проби | Шифр проби | Місце відбору проб | Опис проби |
|---|---|---|---|
| *1* | *2* | *3* | *4* |
| 1 | 2ПТ | Сміттєзвалище транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль | проба ґрунту взята в середовищі розкладання харчових відходів |
| 2 | 5ПТ | Сміттєзвалище транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль | проба тепло ізолюючого шару авто |
| 3 | 1ПТ | Сміттєзвалище транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль | проба твердих харчових відходів |
| 4 | 3ПТ | Сміттєзвалище транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль | проба автомобільних ущільнювачів |
| 5 | 4ПТ | Сміттєзвалище транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль | проба твердих побутових відходів |
| 6 | 2ВРЗ | Звалище ВРЗ центрального залізничного вокзалу. М. Київ, вул.Старовокзальна 2 | проба ТПВ |
| 7 | 1ВРЗ | Звалище ВРЗ центрального залізничного вокзалу. М. Київ, вул.Старовокзальна 3 | проба залишків сверлильно-токарнихробіт |
| 8 | 5ВРЗ | Звалище ВРЗ центрального залізничного вокзалу. М. Київ, вул.Старовокзальна 4 | проба, фрагмент камери автомобільного колеса |
| 9 | 4ВРЗ | Звалище ВРЗ центрального залізничного вокзалу. М. Київ, вул.Старовокзальна 5 | проба харчових відходів |
| 10 | 3ВРЗ | Звалище ВРЗ центрального залізничного вокзалу. М. Київ, вул.Старовокзальна 6 | грунт насичений нафтопродуктом (ймовірніше дизельним паливом) |
| 11 | 6Б | Звалище Бориспільського автозаводу | тверді побутові відходи |
| 12 | 1Б | Звалище Бориспільського автозаводу | проба гумового автомобільного ущільнення |
| 13 | 3Б | Звалище Бориспільського автозаводу | проба, фрагмент автомобільної шини колеса |
| 14 | 4Б | Звалище Бориспільського автозаводу | проба, залишок відпрацьованої моторної оливи |
| 15 | 5Б | Звалище Бориспільського автозаводу | грунт насичений моторною оливою |
| 16 | 6ПТ | Сміттєзвалище транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль | проба шматок автомобільного пластику та шматок автошини |
| 17 | 2Б | Звалище Бориспільського автозаводу | проба ґрунту взята в середовищі розкладання - автомобільних пластикових деталей |

**Виділення чистої культури**

Культури мікроорганізмів із досліджуваних проб виділяли методом накопичувальної культури з використанням загальноприйнятих методів загальної та грунтової мікробіології [85]. Виділення вуглеводнеокиснювальних бактерій проводили на середовищі Таусона, г/л: $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 1,0; $KNO_3$ 0,25; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,25; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,005; дистильована вода 1000,0; pH – 7,0; стерилізували автоклавуванням при 121°С 15 хв.

З метою накопичення мікроорганізмів з відповідними метаболічними можливостями залежно від задач експерименту до складу середовища додавали:

- 2% дизельного палива (v/v) – з метою накопичення бактерій-деструкторів вуглеводнів;
- 10% стоковий розчин пектину до 1% робочої концентрації – з метою накопичення бактерій, здатних до асиміляції пектину;
- 10% стоковий розчин целюлози до 0,1% робочої концентрації – з метою накопичення бактерій, здатних до асиміляції целюлози;
- вовну;
- шматочки грибної пластинки, коренеплодів моркви, бульби картоплі, 0,5Ч1,0 см – для накопичення бактерій, здатних до мацерації вказаних тканин.

Дизельне паливо, грибну тканину, вовну, 10% розчини пектину та целюлози стерилізували автоклавуванням при 112°С 15 хв.

Для отримання накопичувальної культури до 100 мл середовища, що містило відповідний вуглевод або тканину, вносили 1 г досліджуваноого зразка. Культивували до 20 діб за температури 28°С при постійному перемішуванні зі швидкістю 100 об/хв на лабораторному шейкері ЛАБ-ПУ-01 (Росія). Після отримання накопичувальної культури, 1 – 2% інокулюму (v/v) переносили в порцію свіжого середовища з відповідним джерелом вуглецю та культивували до 7 діб за температури 28°С. В ході селекції провели 5 пасажів культивування відібраних мікробних консорціумів на середовищах з відповідними вуглеводами. Після п’ятого пересіву із проб, в яких візуально спостерігалося наростання

біомаси мікроорганізмів, робили висів у чашки Петрі на середовище R2A (Scharlau, протеозний пептон 0,5; гідролізат казеїну 0,5; дріжджовий екстракт 0,5; D(+) глюкоза 0,5; крохмаль 0,5; піруват натрію 0,3; діфосфат калію 0,3; магнію сульфат 0,024; агар-агар 15,0) та агаризоване середовище Таусона з відповідним джерелом вуглецю за методом Дригальського.

Дизельне паливо в об'ємі 100 мкл розтирали стерильним шпателем по всій площі середовища Таусона. У другому варіанті досліду дизельне паливо в об'ємі 1 мл наносили на стерильний целюлозний фільтр, яким накривали засіяне газоном середовище Таусона [86].

Для дослідження здатності мікробних консорціумів до мацерації грибної та рослинної тканини використовували стерильні шматочки грибної пластинки та диски рослинних тканин діаметром і товщиною 10 мм, які поміщали в чашки Петрі на зволожені фільтри. Для отримання дисків бульби картоплі та коренеплоди моркви промивали в проточній та стерильній воді, висушували. Потім стерилізували поверхню 96% етанолом і стерильним пробковий свердлом нарізали диски діаметром 1 см і товщиною 5 – 7 мм, які поміщали в чашки Петрі на зволожені фільтри. На кожен диск наносили по 10 мкл суспензій досліджуваних консорціумів. В якості контролю використовували диски, на які наносили по 10 мкл стерильного фізіологічного розчину. Чашки поміщали в термостат для культивування при температурі 28°С на 3 – 4 доби. Наявність або відсутність мацерації визначали візуально [87]. За наявності ознак мацерації, суспензії мікроорганізмів відповідного консорціуму висівали на агаризоване середовище Таусона з 1% пектину або 0,1% карбоксиметилцелюлози в якості єдиного джерела вуглецю.

Далі за загальними культуральними ознаками розсівали окремі колонії методом «виснаженого штриха» для отримання чистої культури на середовище R2A.

Отримані мікробні ізоляти перевіряли на здатність до засвоєння відповідного вуглеводу в монокультурі. Використовували нічні культури мікроорганізмів, що виросли на агаризованому середовищі LB (Sigma, г/л:

пептон 10,0; дріжджовий екстракт 5,0; NaCl 10,0; агар-агар 15,0). Із застосуванням денситометра Densilameter 2 (Чехія) на стерильному фізіологічному розчині готували стандартизовані суспензії мікроорганізмів із щільністю клітин 0,5 MF. Після чого 200 мкл стандартизованої суспензії переносили у 2 мл середовища Таусона, що містило відповідний вуглевод (2% дизельного палива, 1% пектину або 0,1% карбоксиметилцелюлози). Культивували 4 – 5 діб за температури 28°С при постійному струшуванні 220 об/хв. на орбітальному шейкері-інкубаторі BioSan ES – 20 (Латвія). Наростання біомаси контролювали шляхом висіву мікробних суспензій на середовище R2A за методом Гоулда. Для цього одну повну стандартизовану петлю діаметром 3 мм досліджуваного матеріалу з п'ятидобової культури переносили у сектор А чашки Петрі, де робили до 40 штрихів. Після цього пропалювали петлю і проводили по 4 штрихи в секторах 1, 2, 3. Між секторами петлю не пропалювали. Після інкубації визначали кількість колонієутворювальних одиниць (КУО), користуючись таблицею для визначення кількості КУО за методом секторальних висівів [88].

Виділення бактерій, здатних до метаболізму заліза та його сполук, проводили на середовищі Калиненка (г/л: $FeC_6H_5O_7$ 1,0; $KH_2PO_4$ 0,05; пептон 5,0; водогінна вода 1000,0; pH 7,0; стерилізували автоклавуванням при 121°С 15 хв). Після отримання накопичувальної культури, поверхневий шар біообростання знімали стерильною петлею, переносили в свіжу порцію середовища Калиненка та культивували впродовж 5 діб. Операцію по селекції мікроорганізмів виконували у 10 повторах з інтервалом у 3 – 5 діб. Виявлення мікроорганізмів, здатних утворювати гідрат окису заліза, проводили в процесі мікроскопічних досліджень з попередньою обробкою, що дозволяє диференційовано забарвити бактеріальні клітини та їх чохли, насичені гідратом окису заліза. Для цього на фіксований препарат на 2 хв. наносили 2 краплі 2% водного розчину жовтої кров'яної солі, після чого на 2 – 3 хвилини наносили розчин 5% соляної кислоти. Препарат промивали водою та дофарбовували 3% карболовим розчином еритрозина впродовж 3 хв. В результаті обробки препаратів за вищеописаною методикою, бактеріальні клітини фарбувалися в рожевий колір, а їх чохли,

заповнені гідратом окису заліза, набували яскраво-синього забарвлення. Із проб, в яких спостерігався стійкий ріст мікроорганізмів, здатних утворювати гідрат окису заліза, робили висів у чашки Петрі на середовище R2A для отримання чистої культури [89]. Отримані ізоляти перевіряли на здатність до метаболізму заліза у монокультурі. Використовували нічні культури мікроорганізмів, що виросли у рідкому середовищі LB при постійному струшуванні зі швидкістю 200 об/хв. та температурі 28°C на орбітальному шейкері-інкубаторі, 200 мкл стандартизованої мікробної суспензії щільністю 0,5 MF переносили у 2 мл середовища Калиненка, культивували 5 – 10 діб та проводили мікроскопічне дослідження.

Для ізоляції мікроорганізмів-деструкторів гуми та пінопласту, резинові або пінопластові фрагменти культивували в рідкому середовищі Таусона, де матеріал використовувався як єдине джерело вуглецю. Після 10 діб культивування, фрагменти відмивали в 6-ти порціях стерильної дистильованої води та переносили у чашки Петрі з агаризованим середовищем Таусона без додаткових джерел вуглецю. Ізолювалася мікрофлора, що наростала навколо фрагментів [89].

**Вивчення морфологічних та тинкторіальних ознак**

Тинкторіальні ознаки ізольованих бактерій вивчали методом фарбування за Грамом. Для фарбування клітин бактерій використовували набір фарб Color Gram 2. Для фарбування клітин дріжджів використовували фарбник метиленовий синій за Леффлером . Мазки готували з 48-годинної культури, що виросла на щільному середовищі LB.

**Мікроскопія та мікрофотографія**

Мікроскопію фіксованих препаратів проводили з використанням світлопольного мікроскопа Granum R40 з імерсійним об'єктивом ×100 при збільшенні у 1600 разів.

Морфологічні ознаки мікробних консорціумів або монокультури мікроорганізмів, що розвивалися в присутності дизельного палива або іншого джерела вуглецю, вивчали у препараті «роздавлена крапля» з використанням фазово-контрастного мікроскопу МБИ – 15У42.

Для виготовлення мікрофотографій використовували USB камеру-окуляр MicroMed 3,0 Мп.

## 4.4. Виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування із проб звалищ транспортної інфраструктури м. Києва

Результати експериментальних досліджень, щодо виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування із проб звалищ транспортної інфраструктури м. Києва наведено в таблиці 4.12.

*Таблиця 4.12*

**Накопичувальні культури для первинного виділення мікроорганізмів із проб, відібраних на сміттєзвалищах транспортної інфраструктури м. Києва та Київської області**

| № проби | шифр проби | накопичувальне середовище, єдине джерело вуглецю | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Таусона+дизель, 2%**/ здатність до стабільного росту після 5ти пересівів/ **швидкість наростання біомаси** | **Калиненка**/ здатність до стабільного росту після 5ти пересівів | **Таусона+пектин, 1%** | **Таусона+карбоксиметилцелюлоза, 0,1%** | **Таусона+вовна** | **Таусона+пінопласт** | мацерація грибної та рослинної тканин |
| *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* | *7* | *8* | *9* |
| 1 | 2ПТ | +/+/ 48 год | +/ + | + | - | - | + | + |
| 2 | 5ПТ | +/+ /5-7 діб | +/+ | - | - | - | + водорості | - |
| 3 | 1ПТ | - | +/- | + | - | + | - | + |
| 4 | 3ПТ | +/+ /5-7 діб | +/+ | + | + | + | - | - |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 4ПТ | +/+ /5-7 діб | +/- | + гриб | + водорості | + водорості | + | + |
| 6 | 2ВРЗ | +/-* | +/+ | + | - | + | - | - |
| 7 | 1ВРЗ | - | +/+ | + | + | + | - | - |
| *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* | *7* | *8* | *9* |
| 8 | 5ВРЗ | +/-* | +/- | + | - | - | - | - |
| 9 | 4ВРЗ | +/-** | +/+ | + | - | - | + | - |
| 10 | 3ВРЗ | +/ -***/ мікробний мат | +/- | +/ гриб | - | + | - | - |
| 11 | 6Б | +/-* | - | + гриб | - | + | - | - |
| 12 | 1Б | +/ -*** | - | + гриб | - | - | + | - |
| 13 | 3Б | - | - | - | - | + | - | + |
| 14 | 4Б | +/-*/ мікробний мат | +/- | + | + | - | - | + |
| 15 | 5Б | +/ -***/ мікробний мат | - | - | - | + | - | - |
| 16 | 6ПТ | - | - | + | - | + | + | - |
| 17 | 2Б | +/-* | +/- | + гриб | - | + | - | - |

Примітка: * - ріст припинявся після 2го пересіву; ** - ріст припинявся після 1го пересіву; *** - ріст припинявся після 3го пересіву

*Дизельне паливо*.

Культивування в рідкому середовищі Таусона, що містило 2% дизельного палива в якості єдиного джерела вуглецю (рис. 4.17).

Рис. 4.17. Стабільні консорціуми мікроорганізмів, здатних до росту в присутності дизельного палива, що виявлені у пробах відібраних на сміттєзвалищі транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль

В результаті проведеного дослідження, як показано в таблиці 4.12, мікроорганізми, що здатні до росту в присутності дизельного палива, виявлено в більшості з досліджених проб. Проте, стабільні консорціуми, мікроорганізми яких були здатні до нарощування біомаси впродовж п'яти пересівів, виявлені у пробах, відібраних на сміттєзвалищі транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль.

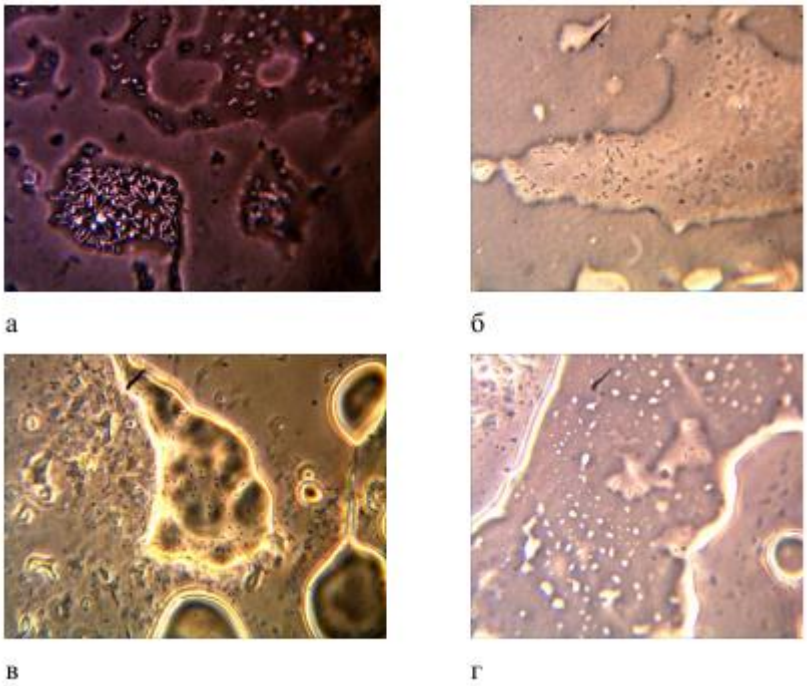



Рис 4.17. Взаємодія клітин консорціумів мікроорганізмів, виявлених в пробах 2ПТ (а), 3ПТ (б), 4ПТ (в) та 5ПТ (г) з краплями дизельного палива після 10 діб культивування на середовищі Таусона з 2% дизельного палива в якості джерела вуглицю. Фазово-контрастна мікроскопія, збільшення ×1600.

В інших пробах мікроорганізми втрачали здатність до культивування в заданих умовах після одного або декількох пересівів. В пробах 1ПТ, 6ПТ, 1ВРЗ та 3Б мікроорганізми даної групи не виявлені (табл. 4.12).

Консорціум мікроорганізмів проби 2ПТ в умовах експерименту стабільно утворював біоплівку помаранчевого кольору за 48 годин. Мікроорганізми проб 3ПТ та 5ПТ формували біоплівки сіро-білого кольору впродовж 5 діб, а проби 4ПТ – 7 діб культивування. В усіх пробах біоплівки мали пластівцеву концентрацію, що легко розпадались при струшуванні. Товщина біоплівки на

10 день культивування складала 0,5 см для проб 2ПТ та 4ПТ та 0,3 см для двох інших проб (рис. 4.16).

За допомогою мікроскопічного дослідження виявлено, що консорціуми утворювалися нерухливими та рухливими паличкоподібними бактеріями. Нерухливі форми розташовувались в середині краплини дизельного палива, в той час як рухливі форми або адгезувались до зовнішньої частини мембрани, або вільно переміщалися у рідині між краплинами дизельного палива (рис. 4.17). Відомо, що здатність до адгезії на нафтопродуктах є важливим етапом у їх утилізації мікроорганізмами, оскільки безпосередній контакт клітин та гідрофобного уможливлює біодеградацію останнього [90].

Можемо припустити, що в пробі 2ПТ присутні плеоморфні бактерії, а у пробах 3ПТ, 4ПТ, 5ПТ – капсулоутворюючі неспороутворюючі палички, що здатні до окиснення дизельного палива.

В пробах 3ВРЗ, 4Б та 5Б на 30–40 добу культивування в присутності дизельного палива утворились ущільнені біоплівки, що за структурою нагадують мікробний мат (рис. 4.18). Мікробні мати являють собою високоінтегровані мікробні екосистеми з істотними фізико-хімічними градієнтами, що є результатом метаболічної активності мікроорганізмів [91]. За даними досліджень останніх років, до складу мікробних матів входять різноманітні консорціуми аеробних та анаеробних бактерій, грибів, водоростей та архей, які беруть участь в геобіохімічних циклах.

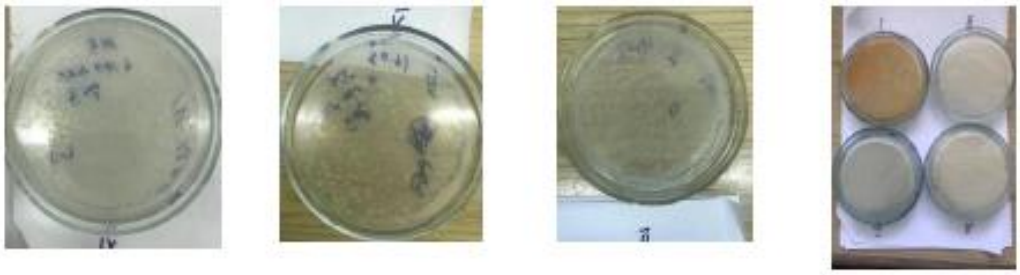
а б в

Рис. 4.18. Розвиток біоплівки у вигляді мікробного мату у пробах відібраних на звалищі Бориспільського автозаводу (а, б) та звалищі ВРЗ центрального залізничного вокзалу м. Києва

На практиці їх застосування було запропоновано в біоремедіації органічних сполук, очищенні стічних вод, виробництві біоводню [92; 93; 94]. На даному етапі роботи мікробні мати пересіяні в свіжу порцію середовища Таусона з 2% дизельного палива для подальшого спостереження. Культивування проводиться за температури 28°С в режимі періодичного освітлення.

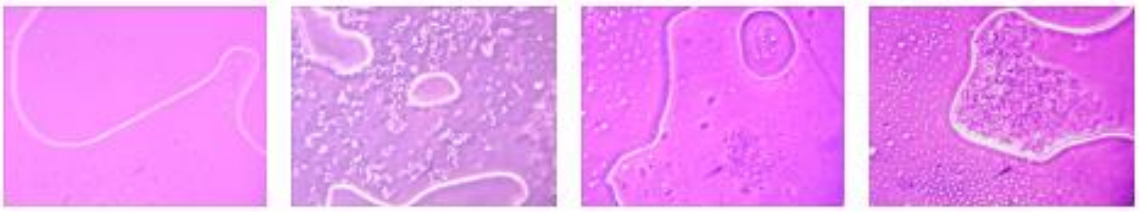
Культивування на агаризованих середовищах Таусона та R2A.

При культивуванні консорціумів бактерій проб 2ПТ, 3ПТ, 4ПТ та 5ПТ на твердому середовищі Таусона, що містило 100 мкл дизельного палива через 24 год культивування при 28°С спостерігали формування потужного газону мікроорганізмів в усіх досліджених пробах (рис. 4.19, а – в). При культивуванні бактерій з використанням фільтру, насиченого дизельним паливом, спостерігався ріст бактерій тільки в пробі 2ПТ на 4 добу культивування (рис. 4.19, г).



а б в г

Рис. 4.19. Культивування бактерій консорціумів 2 – 4ПТ на агаризованому середовищі Таусона в присутності дизельного палива (пояснення в тексті)



1-1 1-2 1-3 1-7

Рис. 4.20. Взаємодія монокультур консорціуму бактерій проби 2ПТ із краплями дизельного палива на 4 добу культивування при температурі 28°С. Фазово-контрасна мікроскопія, збільшення Ч1600

Із консорціуму мікроорганізмів проби 2ПТ було отримано 10 ізолятів бактерій та перевірена їх здатність до асиміляції дизельного палива в монокультурі. Встановлено, що 5 з них мали здатність до росту при культивуванні в рідкому середовищі Таусона, що містило 2–4% дизельного палива, що підтверджувалось даними фазово-контрастної мікроскопії (рис. 4.20) та результатами висіву за методом Гоулда на середовище R2A (рис. 4.21).

Рис. 4.21. Висів за методом Гоулда монокультур бактерій консорціуму 2ПТ на 5 добу культивування в рідкому середовищі Таусона, що містило 3% дизельного палива. Середовище культивування R2A, 48 год., 28°C

Як показано на рис. 4.20 бактерії штаму 1-2 знаходились всередині, а бактерії інших штамів утворювали скупчення з зовнішньої сторони мембрани краплі дизельного палива.

Бактерії штамів 1-1, 1-5 та 1-7 через 48 год. культивування за температури 28°C на середовищі R2A утворювали дрібні, блискучі, гладенькі, прозорі, слизові колонії з рваним краєм та піднятим центром, діаметром 2–3 мм; бактерії штаму 1-2 – дрібні, опуклі, пастоподібні колонії з рівним краєм, м’якої консистенції, помаранчевого кольору, діаметром 2 мм; бактерії штаму 1-3 – блискучі, прозорі, слизові, текучі колонії з хвилястим краєм, діаметром 1–1,5 см (рис. 4.21).

За морфологічними та тинкторіальними ознаками бактерії штаму 1-2 можна віднести до групи **кориноморфних бактерій**, бактерії інших штамів представлені **грамнегативними паличками** (рис. 4.22).

Рис. 4.22. Морфологічні та тинкторіальні ознаки монокультур бактерій, ізольованих із проби 2ПТ. Середовище культивування R2A, 48 год, 28°С. Фарбування за Грамом, світлова мікроскопія, збільшення Ч1600.

На даному етапі проводяться роботи по ізоляції чистих культур бактерій, здатних до асиміляції дизельного палива, із консорціумів в пробах 3 – 5ПТ.

*Здатність до мацерації рослинної та грибної тканин.*

Під час дослідження здатності мікробних консорціумів до мацерації грибної та рослинної тканини стабільні консорціуми бактерій виявлені у зразках, відібраних на сміттєзвалищах транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль та Бориспільського автозаводу (таб. 4.12).

Як показано на рис. 4.23, після нанесення 10 мкл суспензії накопичувальної культури відбувається руйнування рослинних та грибної тканин в пробах 1ПТ, 2ПТ, 4ПТ, 3Б та 4Б. На даному етапі відбуваються роботи по ізоляції чистих культур мікроорганізмів вказаних консорціумів на агаризованому середовищі Таусона, що містить 1% пектину або 0,1% карбоксиметилцелюлози в якості єдиного джерела вуглецю.

*Мікроорганізми циклу заліза*

Як показано в таблиці 4.12, мікроорганізми, що приймають участь у циклі заліза, виявлено в більшості проб сміттєзвалища транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль та звалища ВРЗ центрального залізничного вокзалу у м. Києві (рис. 4.24).

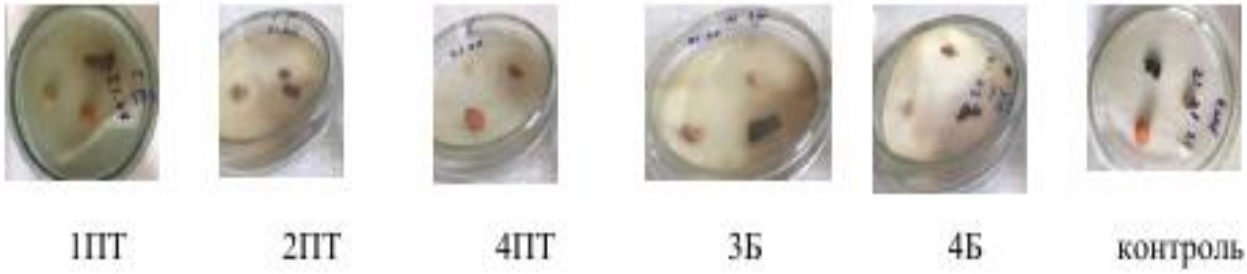



Рис. 4.23. Мацерація рослинної та грибної тканини консорціумами мікроорганізмів зі сміттєзвалищ транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль та Бориспільського автозаводу

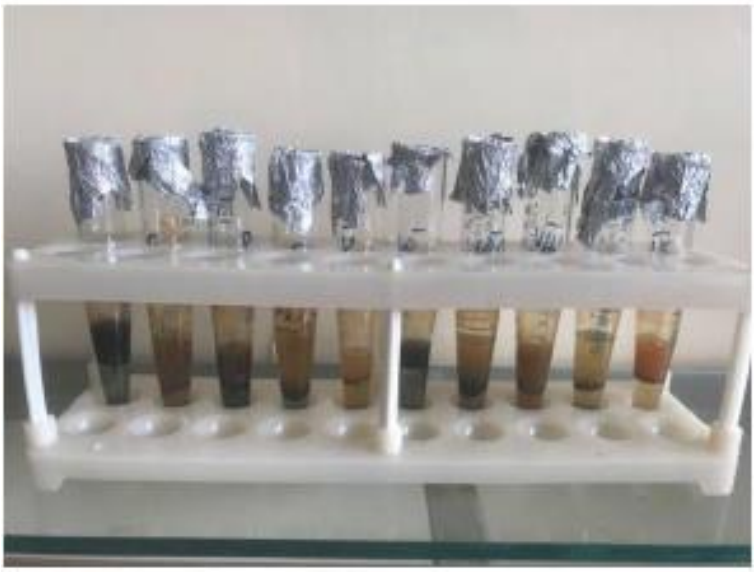


Рис. 4.24. Ріст мікроорганізмів циклу заліза в накопичувальному середовищі Калиненка

В пробах, відібраних на звалищі Бориспільського автозаводу, мікроорганізми цієї групи були виявлені у пробах 2Б та 4Б, проте вже після 1 пасажу мікроорганізми цих консорціумів втрачали здатність до культивування в заданих умовах. В результаті дослідження із проб 2ПТ, 3ПТ, 5ПТ було ізольовано 9 штамів мікроорганізмів (штами 56, 57, 58, 60, 61, 65, 66, 67, 68). Зі звалища ВРЗ центрального залізничного вокзалу, проби 1ВРЗ, 2ВРЗ та 4ВРЗ, ізольовано 3 штами мікроорганізмів (штами 62, 63, 64).

В монокультурі ізольовані мікроорганізми не втрачали здатності до накопичення гідроокису заліза у поверхневих структурах, що підтверджувалося даними мікроскопії (рис. 4.25).

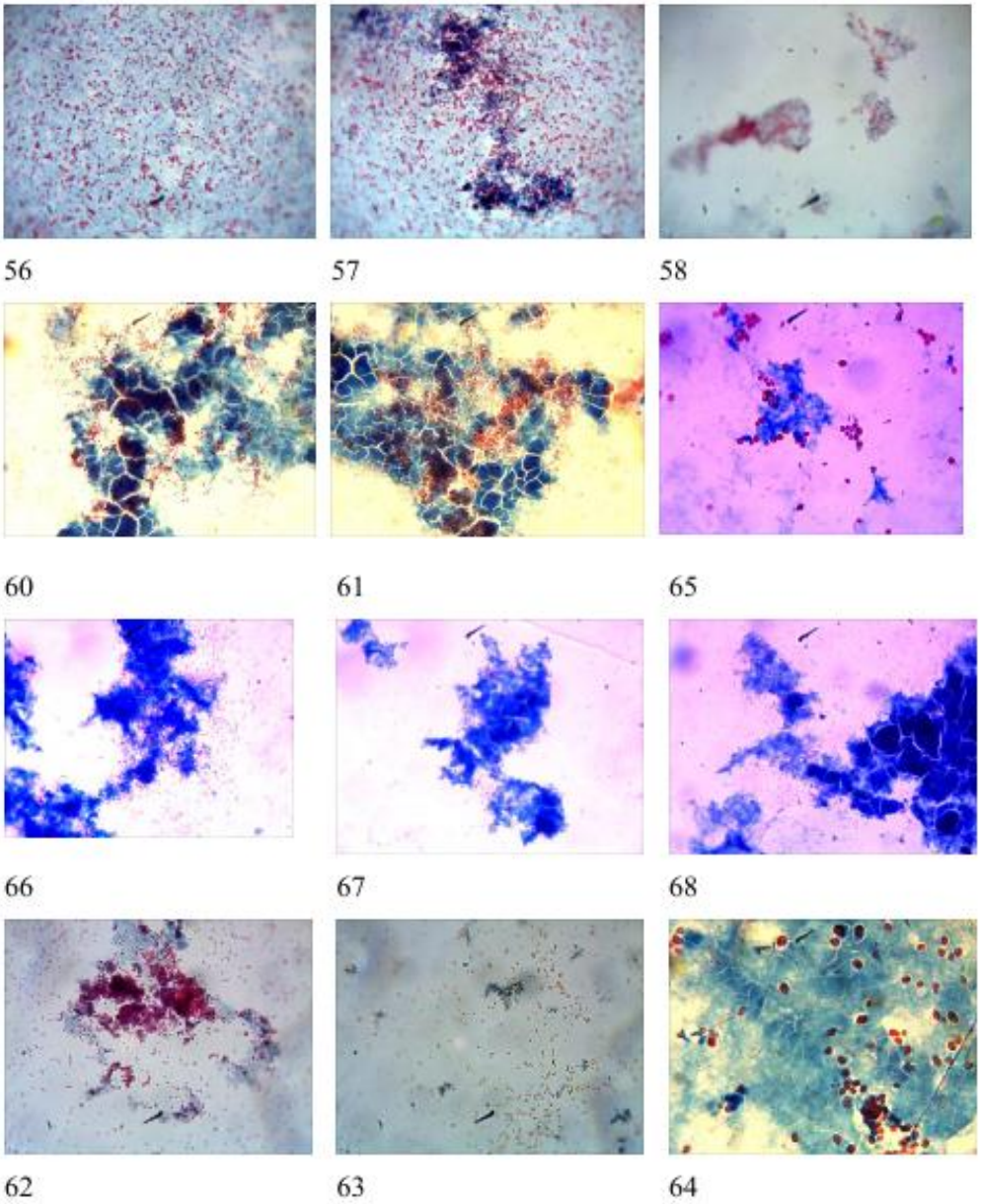



Рис. 4.25. Фарбування поверхневих структур бактерій, що заповнені гідратом окису заліза. Світлова мікроскопія, збільшення Ч1600.

Мікроорганізми штамів 64 та 65 на середовищі R2A за температури культивування 28°С через 72 год. культивування утворювали дрібні, опуклі, пастоподібні колонії з рівним краєм, м’якої консистенції, рожевого та білого кольорів відповідно. Розмір колоній коливався від 1 до 3 мм. Мікроорганізми

інших штамів на середовищі R2A через 48 год. культивування при 28°C утворювали дрібні, блискучі, гладенькі, прозорі, слизові колонії з хвилястим краєм та піднятим центром, як показано на рис. 4.26 для штаму 57. Розмір колоній становив від 1,5 до 3 мм.

Рис. 4.26. Колонії бактерій штамів 57, 64 та 65 на середовищі R2A

За морфологічними та тинкторіальними ознаками мікроорганізми штамів 64 та 55 можна віднести до групи дріжджеподібних грибів. Бактерії інших ізольованих штамів являють собою грамнегативні палички (рис. 4.27).

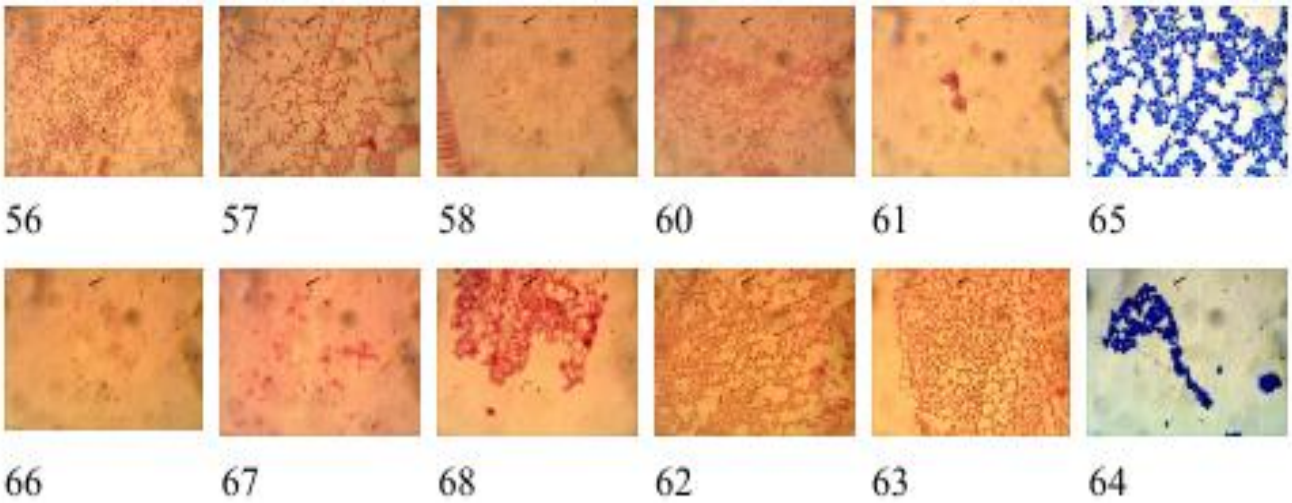



Рис. 4.27. Морфологічні та тинкторіальні ознаки бактерій циклу заліза: 56 – 63 – фарбування за Грамом; 64–65 – фарбування метиленовим синім за Леффлером. Світлова мікроскопія, збільшення Ч1600. Штами 56–58, 60, 61, 65–68 – сміттєзвалище транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль; штами 62–64 – звалище ВРЗ центрального залізничного вокзалу

Таким чином, можемо припустити, що для виживання в складних екологічних умовах, що утворюються в місцях зберігання технічних відходів, на рівні мікробного ценозу реалізуються декілька сценаріїв: на сміттєзвалищі транспортних відходів поблизу аеропорту Бориспіль відбувається накопичення мікроорганізмів-деструкторів, а на двох інших полігонах – утворення високоспеціалізованих надклітинних систем, що, також, може пояснювати швидку втрату мікроорганізмами здатності до росту або функціоналу в лабораторних умовах при спробі їх ізоляції в чисту культуру.

Отже, відібрано 5 штамів мікроорганізмів, що мали здатність до асиміляції дизельного палива, відібрано 12 штамів мікроорганізмів, що мали здатність до метаболізму сполук заліза, а також досліджено морфолого-культуральні особливості ізольованих штамів, які можуть бути корисними при їх подальшій ідентифікації.

**Гриби та дріжджі.**

Відповідно до сучасних методів ґрунтової мікології [30] виділення із відібраних проб та культивування мікроскопічних грибів в накопичувальній культурі здійснювали із використанням щільних та рідких живильних середовищ: середовища Сабуро, Чапека, мальт-екстракт агару, мальт-екстракт бульону, картопляно-глюкозного агару.

Мікроскопічні гриби ідентифікували за допомогою відповідних визначників вітчизняних та зарубіжних авторів [95, 96]. Таксономічний аналіз здійснювали за дев’ятим виданням «Словника грибів» [97].

Аналіз отриманих результатів свідчить, що у відібраних пробах виявлено мікроскопічні гриби, які належать до таких таксономічних груп: відділів *Zygomycota* (види родів *Mucor, Rhizopus*), *Basidiomycota* (дріжджові гриби роду *Rhodotorula*) та *Ascomycota* (види родів *Eurotium, Monascus, Talaromyces* та ін., зокрема субстратспецифічний гриб *Amorphotheca resinae* (сучасний синонім *Hormoconis (Cladosporium) resinae*). В досліджених зразках виявлено також представників неформальної групи *Anamorphic fungi* (види родів *Acremonium, Alternaria, Aspergillus, Aureobasidium, Cladosporium, Fusarium, Geomyces,*

*Gliocladium, Exophiala, Penicillium, Trichoderma, Stemphylium, Ulocladium* та ін.), представників групи целоміцетів (види роду *Phoma*). (рис. 4.28-4.30.)

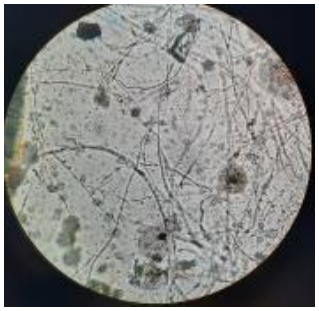
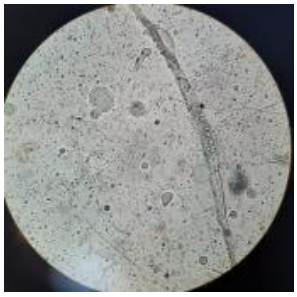
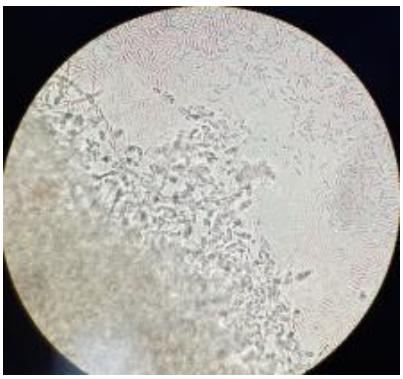
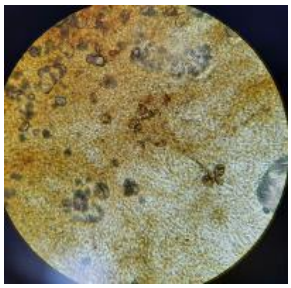
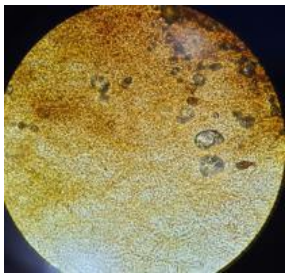



Рис. 4.28. Мікроорганізми (мікроскопічні гриби родів *Cladosporium* та *Fusarium*) в пробі зразка №4Б (XIV) (залишок відпрацьованої моторної оливи із звалища Бориспільського автозаводу



А Б

Рис. 4.29. Мікроскопічні гриби роду *Fusarium* в пробі зразка №2Б (XVII) (проба ґрунту взята в середовищі розкладання автомобільних пластикових деталей із звалища Бориспільського автозаводу). А – чиста культура *Fusarium* sp., Б – збільшення × 400.

А Б В Г

Рис. 4.30. Мікроскопічні гриби роду *Aureobasidium pullulans* (Б) та *Alternaria* cf *chlamidospora* (В, Г) в пробі зразка №2Б (XVII) (проба ґрунту взята в середовищі розкладання автомобільних пластикових деталей із звалища Бориспільського автозаводу). А – культури грибів на середовищі Сабуро, Б-Г – збільшення × 400.

В досліджених нами зразках виявлено мікроскопічні гриби *Aureobasidium pullulans* – в зразках №3ВРЗ (грунт насичений нафтопродуктом, ймовірніше дизельним паливом) та №5ВРЗ (фрагмент камери автомобільного колеса). Вказані гриби здатні активно продукувати високомолекулярні позаклітинні полісахариди та важливі ферменти (амілази, ксиланази, пектинази), що широко використовуються в біотехнології.

В низці зразків (зокрема, в зразку №6Б (тверді побутові відходи) було виявлено дріжджі *Rhodotorula* cf. *Rubra*, які належать до так званих «червоних» дріжджів. Окрім доведеної біосинтетичної активності вказані пігментовані дріжджі здатні розвиватися на різноманітних джерелах таких складних вуглеводнів, як парафіни нафти, низькомолекулярні спирти тощо. Встановлено, що дріжджі роду *Rhodotorula* стійкі до впливу важких (токсичних) металів та застосовуються в біоремедіаційних процесах, в технології очистки стічних вод, забруднених токсичними металами, нафтопродуктами тощо. Технології з використанням мікроорганізмів не призводять до порушення біологічної рівноваги в природі, дозволяють досягати ефективного розкладання забруднювачів довкілля без утворення токсичних продуктів деструкції та відновлювати родючість ґрунтів.

В зразках №4Б (проба, залишок відпрацьованої моторної оливи), №5Б (грунт насичений моторною оливою), №3ВРЗ (грунт, насичений нафтопродуктом, ймовірніше дизельним паливом) виявлено субстратспецифічні мікроскопічні гриби *Amorphotheca resinae* (сучасний синонім *Hormoconis (Cladosporium) resinae*), здатні до розвитку на паливах для реактивних двигунів.

## Розділ 5. Дослідження механізму інтенсифікації деградації дизельного палива та гасу за різних температур

Як відомо, кожен вид мікроорганізмів має свій діапазон мінімальної, оптимальної та максимальної температур для розвитку та виживання. Зі збільшенням температури в межах цього діапазону пришвидшується метаболізм

мікроорганізмів [30, 32, 39, 52]. При перевищенні максимальної температури клітинний мікроорганізм перестає функціонувати та мікроорганізм помирає.

Оптимальна температура для більшості мікроорганізмів-нафтодеструкторів складає 25 − 30°С. Проте зафіксоване зростання мікроорганізмів і за температури 2°С та 55°С [42].

Реакція мікроорганізмів, що розвиваються за рахунок вуглеводнів авіаційних палив, на перепад температур дуже різноманітна та залежить від фізіологічних особливостей мікроорганізмів.

По відношенню до температури (рис.5.1) мікроорганізми поділяються на [30, 32]:

– психрофіли − мікроорганізми, які розвиваються за температур до 10 °С;

– мезофіли − мікроорганізми, що найкраще розмножуються за помірних температур 25–40 °С;

- термофіли − мікроорганізми, що активно розмножуються за температур вище 50°С).

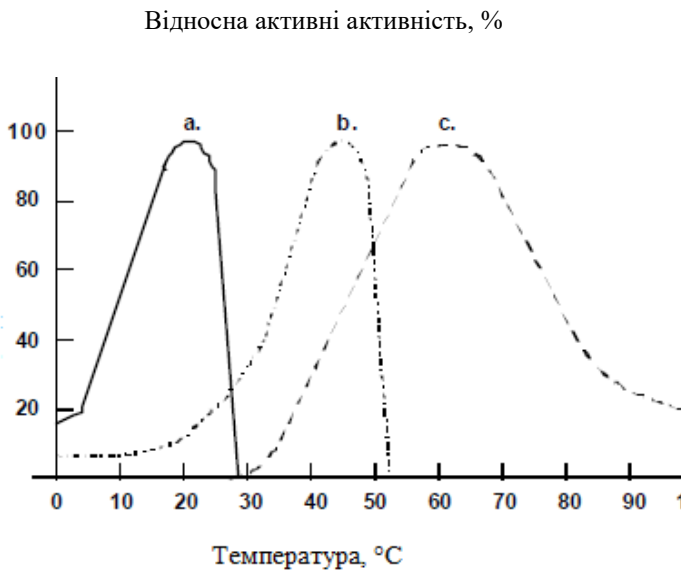



Рис. 5.1. Вплив температури на мікробіологічну активність:

a – психрофілів; b – мезофілів; c - термофілів

Більшість мікроорганізмів-нафтодеструкторів належить до групи, яка активно розвивається за температур 20−50°С, тобто мезофілів. Як видно з рис. 5.1 метаболічний потенціал мікроорганізмів зростає зі збільшенням температури в межах оптимального діапазону. Нижча температура за оптимальний діапазон уповільнює розвиток мікроорганізмів. Клітини мікроорганізмів можуть гинути або уповільнювати свій розвиток деякий час, якщо температура перевищує оптимальний діапазон. Деякі мікроорганізми активно розвиваються за помірних температур, проте можуть витримати температуру кипіння.

Цей висновок підтверджують дослідження вчених [52] на прикладі грибів *Hormoconis resinae* та *Phialophora sp.*, які були виділені з зразків авіаційного палива. За результатами вказаних досліджень обидва штами зберігають свою життєздатність за температури мінус 57°С (табл. 5.1) [52]. Спори *Hormoconis resinae* залишається життєздатним за температури 60°С не більше 3-х діб та гинули за температури 70°С. Спори *Phialophora sp.* залишаються життєздатними за температури 55°С не довше доби та гинули за температури 60°С.

*Таблиця 5.1*

**Життєдіяльність грибів за екстремальних температур**

| Назва гриба | Час, доба | Температура, °С | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | -57 | -20 | 40 | 45 | 50 | 55 | 60 | 70 |
| *Hormoconis resinae* | 1 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| | 3 | + | + | + | + | + | | + | - |
| | 7 | + | + | + | + | + | + | - | - |
| *Phialophora sp.* | 1 | + | + | + | + | + | + | - | - |
| | 3 | + | + | + | + | + | - | - | - |
| | 7 | + | + | + | + | - | - | - | - |

Примітка: «+» - збереження, «-» - відсутність життєдіяльності.

Найбільш активний розвиток обох видів на паливі спостерігався за температури 28°С (табл. 5.2).

Відомо, що спори штамів *Aspergillus fumigatus*, виділених з палива надзвукових літаків, виживають за температури до мінус 32°С та 80°С [30]. За свідченням вчених деякі види родів *Aspergillus* та *Cladosporium* виживають під час охолодження до мінус 196°С [49].

*Таблиця 5.2*

**Розвиток мікроорганізмів в паливі за позитивних температур (в балах)**

| Назва гриба | Час прояву ознак зростання, доба | Температура, °С | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 9 | 18 | 28 | 36 |
| Hormoconis resinae | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 14 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| | 21 | 1 | 2 | 3 | 1 |
| Phialophora sp. | 7 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | 14 | 1 | 2 | 4 | 2 |
| | 21 | 2 | 2 | 4 | 3 |

Примітка: 0 – відсутність ознак зростання, 1 бал – помутніння водного шару, утворення осаду, 2 бали – поява дрібних пластівців у водному шарі, 3 – поява великих пластівців у водному шарі, 4 бали – утворення невеликих згустків, 5 балів – утворення великих згустків.

Результати наших досліджень щодо умов розвитку різних видів мікроорганізмів, ідентифікованих нами із звалища транспортної інфраструктури міста Києва, у гасі та дизельному паливі за різних температур наведено у таблиці 5.3.

*Таблиця 5.3*

**Види мікроорганізмів, що виявленні в паливі, умови їх розвитку та види вуглеводнів, що споживає даний мікроорганізм**

| Домен | Клас | Родина | Рід | Представники (вид) | Вид вуглеводню, що споживає | Умови розвитку |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* | *7* |
| **Бактерії** | Actinobacteria | Nocardiaceae | Rhodo-coccus | Rhodococ-cus erythropolis | Асимілює н-алкани ($C_{10}$-$C_{17}$), ароматичні вуглеводні (бензол, толуол, ксилол, нафталін), активно засвоювали н-алкани $C_{16}$ - $C_{18}$ $C_{22}$ - $C_{24}$ і $C_{26}$ - $C_{31}$ з | Здатний рости в присутності 5% NaCl; при вихідному pH 5,7 і 8,0; температурі від +10 до +40°С; витримує осмотичний тиск 31,4 атм, нагрівання за 60°С протягом |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | утворенням проміжних сполук $C_{11}$- $C_{14}$ | 30 хв і за 72ºС протягом 15 хв |
| | Actinobacteria | Nocardia ceae | Rhodo-coccus | Rhodococ-cus sp. | Використовує як джерело енергії вуглеводні авіаційних палив. | Росте в температурному діапазоні від 2 ° С до 32 ° С, оптимальна 25 ° С. Оптимальний pH для зростання 6,0-8,0. Здатний до зростання в присутності 3% NaCl. У додаткових факторах росту мікроорганізм не потребує. |
| | Magnoliopsida | Gordonia ceae | Gordo-nieae | Gordonia rubriper-tincta | н-алкани $C_{15}$ - $C_{23}$, а також ароматичні вуглеводні | Стійкі до голодування, високого вмісту солей, впливу ультрафіолету, широкого діапазону кислотності і низьких температур |
| | Gamma Proteobacteria | Pseudo-monada-ceae | Pseudo-monas | Pseudomo-nas putida | Не має здатності до денітрифікації з утворенням азоту. Використовує єдине джерело вуглецю глюкозу, глутамат, сукцинат. Використовує як джерело зростання вуглеводні бензоат, саліцилат, нафталін, фенантрен, нафту. | Не має потреби у факторах росту. Не зростає за температури +41 ° С. Оптимальний pH для зростання 6,0-8,0. Здатний до зростання в присутності 3%. |
| **Гриби** | Dothideomycetes | Davidiell aceae демацієв их | Кладос-порій (Clados-porium | Cladospo-rium resinae (Hormo-conis resinae) | Засвоює вуглець із вуглеводнів. Спостерігається тенденція до росту на вуглеводнях ($C_{10}$-$C_{17}$), найбільше значення на гексадекані ($C_{16}H_{34}$) | Тривалий час залишаються життєздатними, хоча і не розмножуються. Але достатньо наявності тільки однієї частини води на 10000 частин палива, щоб розвиток став можливим. Життєздатність зберігається за температури -57ºС, спори залишаються життєздатними за температури 60ºС не більше як 3 доби і гинуть за 70ºС. Найактивніший ріст за температури 28ºС. |
| | Eurotiomycetidae | Monasca ceae | Monasc-us | Monascus floridanus | Спостерігається тенденція до росту на вуглеводнях ($C_{10}$-$C_{17}$), найбільше значення на гептадекані ($C_{17}H_{36}$) | Найкраще розвивається за температури від +9ºС до +36ºС |
| | Eurotiomycetes | Trichoco maceae | Aspergil-lus | Aspergil-lus amstelo-dami | Використовує як джерело енергії вуглеводні авіаційних палив. | Ріст стимулюється світлом, при високому осмотичному тиску. Оптимальна температура для росту і формування колоній від +33 °С до +35 °С. |
| | Eurotiomycetes | Trichoco maceae | Penicil-lium | Penicil-lium citrinum | Використовує як джерело енергії вуглеводні авіаційних палив. | Найкраще розвивається за температури від +33°С до +35°С |
| | Saccharomycetes | Saccharo myce-tales | Candida | Candida guillier-mondii | Використовує як джерело енергії вуглеводні авіаційних палив. | Оптимальна температура для розвитку 25-37°С, pH - 5,8 - 6,5 |

# Розділ 6. Дослідження здатності мікроводоростей поглинати біогенні елементи зі стічних вод

## 6.1. Оцінювання біотехнологічного потенціалу мікроводоростей для очищення стічних вод

Біогенними є хімічні елементи, які постійно входять до складу живих організмів і виконують в них певні біологічні функції. До числа біогенних відносять: кисень, вуглець, водень, азот, фосфор, бор, сірку, кальцій, калій, натрій, хлор, а також йод, цинк, магній, марганець, залізо та інші хімічні елементи, необхідні організмам у невеликих кількостях.

Основними біогенними елементами у комунальних СВ азот та фосфор, що знаходяться там у вигляді різних сполук. Ці сполуки, попадаючи у водойми, призводять до їх евтрофікації. Вони збільшують швидкість розвитку фітопланктону на поверхні води. Через це знижується проникність води для світла та кисню. Недостатня інтенсивність світла призводить до пригнічення росту глибинних рослин та їх загибелі. Недостатня кількість кисню спричиняє загибель інших водних організмів. Крім того за таких умов відбуваються процеси відновлення деяких речовин з їх оксидів, таких як залізо, сірководень, амонійний азоту, марганець тощо. В результаті збільшується їх уміст у воді водойми. Наслідком евтрофікації є не тільки загибель риби у водоймах рибогосподарського призначення, але також призводять до зниження екологічної безпеки у випадку, якщо водойма використовується як рекреаційна (для водного туризму), або як поверхневе джерело питного водопостачання. Ціанобактерії (синьозелені водорості), що накопичуються на поверхні водойми, виробляють такі вторинні метаболіти, як широкий спектр токсинів, відомих як ціанотоксини. Через те, що вони потенційно можуть негативно впливати на здоров’я людини, їх часто розглядають як патогенні організми, не дивлячись на те, що вони не розвиваються в організмі [63].

Кожний ціанотоксин може бути результатом метаболізму більш ніж одного виду ціанобактерій. І навпаки, деякі види ціанобактерій можуть продукувати більш ніж один вид ціанотоксинів. Деякі ціанотоксини та бактерії, наслідком метаболізму яких у річковій воді вони є, наведено в таблиці 6.1 [64].

*Таблиця 6.1*

**Деякі ціанотоксини та бактерії, наслідком метаболізму яких у річковій воді вони є**

| № з.п. | Ціанотоксини | Бактерії, наслідком метаболізму яких вони є |
|---|---|---|
| 1 | Мікроцистин | Більшість *Microcystis spp* і *Planktothrix spp*, деякі *Anabaena, Nostoc*, а також *Synechocystis, Cyanobium bacillare, Arthrospira fusiformis, Limnothrix redekei, Phormidium formosum, Hapalosiphon hibernicus.* |
| 2 | Нодуляріни | *Nodularia spumigena* (як правило в гирлах річок) |
| 3 | Циліндроспермопсин | *Cylindrospermopsis raciborskii, Umezakia natans, Aphanizomenon ovalisporum, Aphanizomenon flos-aquae, Rhaphidiopsis curvata, Anabaena lapponica, Anabaena bergii* |
| 4 | Анатоксин-а | Більшість *Anabaena spp*, деякі *Aphanizomenon flos-aquae* і *Aphanizomenon issatschenkoi, Cylindrospermum, Microcystis spp, Planktothrix spp, Raphidiopsis mediterranea* |
| 5 | Гомоанатоксин-а | *Oscillatoria formosa, Raphidiopsis mediterranea* |
| 6 | Анатоксин-а(s) | *Anabaena flos-aquae, Anabaena lemmermannii* |
| 7 | Сакситоксини | *Aphanizomenon, Anabaena, Lyngbya, Cylindrospermopsis spp*. |
| 8 | LPS ендотоксини | Усі ціанобактерії |
| 9 | Аплізіатоксин, Лінгбіатоксин, Дебромоаплізіатоксин | *Oscillatoria nigro-vridis* |
| 10 | Мікровірідин | *Microcystis spp* |
| 11 | B-N-метиламіно-L-аланін (BMAA) | *Microcystis spp, Anabaena, Nostos, Planktothrix spp*, а також більшість тестованих симбіонтів ціанобактерій |

Ціанотоксини можуть викликати у людей, тварин, птахів та риб гостре отруєння навіть з летальним результатом. Наприклад циліндроспермопсин добре

розчиняється у воді, утворюючи стабільний розчин. Він є небезпечним для людини під час контакту зі шкірою та особливо слизовими оболонками, а також у випадку потрапляння всередину з їжею (риба та інші річкові продукти). Потрапляючи у організм, він викликає розлади у роботі печінки, пригнічує синтезування білків, що є результатом відмирання клітин.

Евтрофікація, через істотне погіршення якості води, робить непридатними рекреаційні водойми для водного туризму, а також є причиною збільшення вартості питної водопровідної води через збільшення вартості реагентів для її очищення на станціях водопідготовлення.

## 6.2. Дослідження процесів доочищення стічних вод від біогенних елементів з використанням біоконверсії

Культивування мікроводоростей у промислових масштабах для виробництва біопалива стикається з багатьма труднощами, у тому числі економічного характеру. Забезпечення достатньої кількості культурального середовища потребує використання значних об’ємів води та поживних речовин (біогенних елементів). Значними також є витрати на електроенергію для перемішування культурального середовища з мікроводоростями з метою забезпечення рівномірного освітлення. Під час культивування у холодний період року необхідно підігрівання для температурної стабілізації.

Культивування в умовах України також поступається багатьом регіонам світу за кількістю отримуваної сонячної енергії, що досягає земної поверхні. Так, середньодобова кількість енергії сонячної радіації для Київської області оцінюється у 3,1 кВт·год/м$^2$, для Дніпровської області – 3,36 кВт·год/м$^2$, для Одеської області – 3,55 кВт·год/м$^2$, для Львівської – 2,92 кВт·год/м$^2$. Разом з тим, цей показник для більш сонячних ніж Україна країн складає [65]:

- США (усереднений для штату Техас) – 4,7 кВт·год/м$^2$;
- Іспанія (район Мадриду) – 4,75 кВт·год/м$^2$;
- Індія (район Ченнаї) – 5,23 кВт·год/м$^2$;

- Автралія (Квінсленд) – 5,90 кВт·год/м$^2$;

- Ефіопія – 6,14 кВт·год/м$^2$.

Разом з тим мікроводорості мають властивості у процесі фотосинтезу поглинати з культурального середовища біогенні елементи, перш за усе сполуки азоту та фосфору 66, 67].

Біогенні елементи, головними з яких у СВ є сполуки фосфору та азоту, попадаючи у водойми призводять до їх евтрофікації. Ці елементи пришвидшують розвиток фітопланктону на поверхні води, в результаті чого знижується її проникність для світла та кисню. Нестача світла призводить до пригнічення та загибелі глибинних рослин. Нестача кисню призводить загибелі інших водних організмів, а також до відновлення у воді з оксидів: заліза, сірководню, амонійного азоту, марганцю тощо. Евтрофікація не тільки призводить до загибелі риби в рибогосподарських водоймах, та непридатності для водного туризму рекреаційних водойм, вона також є причиною здорожчання питної водопровідної води через збільшення витрат на реагенти, якщо водойма є поверхневим джерелом питного водопостачання.

Фосфор є елементом, необхідним для росту організмів. Його сполуки відіграють значну роль у процесах фотосинтезу. Цей елемент є лімітуючим для продуктивності водойм, у тому числі у процесах евтрифікації. Досвід свідчить, навіть за значних концентрацій сполук азоту у водоймах і недостатній концентрації сполук фосфору, евтрофікація не спостерігається. Незначне збільшення його концентрації може призводити до вибухового розвитку біомаси фітопланктону.

Природним джерелом надходження фосфору у водойми є процеси вивітрювання та розчинення фосфоровмісних порід, а також процеси біологічного розкладання залишків відмерлих тварин та рослин. Процеси вивітрювання так само є джерелом фосфору для господарської діяльності людини. Завдяки своїм властивостям сполуки фосфору є абсолютно необхідними для екосистем. Для дорослої людини потреба у фосфорі з харчуванням складає 1,2 г/добу. Вагітні жінки та жінки, що годують, потребують його навіть більше – 1,5 г/добу.

Відомо, що прісноводні мікроводорості здатні змінювати накопичену концентрацію фосфору та азоту у своїй біомасі залежно від їх концентрації у культуральному середовищі. Накопичення фосфору залежить від концентрації як фосфору, так і азоту в середовищі, а накопичення азоту є незалежним від концентрації у середовищі фосфору [68]. Зі зменшенням кількості поживних речовин у середовищі швидкість зростання клітин зменшується, результатом чого є зменшення швидкості приросту біомаси, проте поглинання вуглецю клітинами продовжується, результатом чого є збільшення у біомасі вуглеводнів та ліпідів [69]. Зі збільшенням кількості поживних речовин у середовищі культивування, мікроводорості можуть з часом адаптуватися до надлишку і почати надлишкове засвоєння і в результаті також збільшувати уміст вуглеводнів та ліпідів у своїй біомасі. Гнучкий метаболізм робить можливим адаптування до складу культурального середовища у широких межах і, таким чином, полегшує умови культивування [70]. Але адаптація, у свою чергу, впливає на склад вихідної біомаси мікроводоростей. Потенціал поглинання біогенних елементів залежить від їх умісту у біомасі мікроводоростей, що культивуються. Для сполук фосфору він обернено пропорційний їх умісту у біомасі [71]. Оскільки уміст фосфору у сухій масі мікроводоростей може коливатися від 0,03 до 3%, а уміст азоту – від 3 до 12% [72], то проектування фотобіореакторів, робота яких грунтується на постійному співвідношенні умісту азоту і фосфору є недоцільним.

У традиційних фотобіореакторах для культивування мікроводоростей, як правило, використовують синтетичні культуральні середовища. За таких умов, собівартість отриманої біомаси є високою, оскільки процес потребує постачання різних речовин, що входять у середовище, їх дозування, змішування тощо. Культивування мікроводоростей безпосередньо на КОС, використовуючи попередньо очищені СВ, усе ще багаті на органічні та неорганічні з’єднання, що здатні відігравати роль компонентів культурального середовища, здешевлює процес [73].

Аналіз свідчить, що під час культивування товарної біомаси мікроводоростей у фотобіореакторах найбільш дорогими компонентами

культурального середовища є вода і неорганічні речовин. За таких умов, під час використання каналізаційних СВ для культивування біомаси з метою отримання ліпідів, можна скоротити витрати чистої води на 90%, а також забезпечити потреби мікроводоростей у неорганічних речовинах за виключенням фосфору [74]. Під час культивування у міксотрофних умовах СВ частково забезпечують також потребу у органічних речовинах.

Враховуючи це, для підвищення економічної ефективності процесів культивування їх доцільно поєднати з процесами очищення комунальних СВ від біогенних елементів. Для цього СВ мають попередньо пройти механічне та біологічне очищення традиційними методами для набуття достатнього рівня прозорості [75]. Такі СВ містять значну кількість біогенних елементів (сполук азоту та фосфору), а також інших поживних речовин. Їх концентрація на виході з традиційних очисних споруд не є постійною, а коливається залежно від багатьох факторів. Скидання цих елементів у відкриті водойми разом із СВ часто є причиною евтрофікації цих водойм (швидкого розвитку фітопланктону у воді, перш за все на її поверхні). Це знижує здатність світла та кисню проникати у товщу води, а їх нестача там призводить до загибелі флори та фауни. Мікроводорості є гарними поглиначами біогенних елементів. Вони використовують азотні та фосфорні сполуки у процесі фотосинтезу. Їх видалення зі СВ знижує ризики розвитку евтрофікаційних процесів у водоймах.

Не дивлячись на те, що комунальні СВ здатні забезпечувати мікроводорості основними елементами для росту, на теперішній час вони не знайшли широкого застосування як культуральне середовище. Найбільш істотною різницею під час культивування мікроводоростей у штучних середовищах та СВ є складний хімічний склад саме СВ. Концентрація фосфору та азоту в них може змінюватися у широких межах. Значні концентрації азоту у формі сполук амонію можуть виступати інгібіторами росту мікроводоростей [74]. Промислові СВ, що містять значні концентрації металів (кадмій, ртуть, цинк тощо) не є придатними для культивування, оскільки ці метали також виступають інгібіторами росту .

Мікроводорості здатні адаптуватися до зміни параметрів середовища, зокрема зміни умісту фосфору та азоту. Найкраще адаптуються до зміни умов середовища такі культури, як *Chlorella, Botryococcus, Scenedesmus* [76].

Останні дослідження показують, що ефективність поглинання біогенних елементів із СВ може бути збільшена шляхом направленої селекції мікроводоростей для культивування у конкретних СВ конкретного складу. Проте дослідження велику увагу приділяють відкритим проточним системам культивуваня, що мають рід недоліків:

Викоритовують для культивування швидкісні канали з завислою біомасою мікроводоростей у воді. У світовій практиці їх називають *high rate algae ponds* (HRAP). Технологія культивування у відкритих водоймах є досить пасивною. Такі канали виконують мілкими, їх глибина переважно коливається від 20 до 30 см. Як культуральне середовище використовують переважно чисту воду, яка містить концентрацію біомаси мікроводоростей близько 1–4 кг/м$^3$. Приріст біомаси у цьому випадку досить низький, переважно через низький коефіцієнт засвоєння світла, коливання температури, забруднення, втручання ззовні тощо.

Використання таких каналів для очищення СВ є проблематичним. Оскільки пасивність технології передбачає тривалий час перебування мікроводоростей у культуральному середовищі, що у світовій практиці називається *hydraulic retention time (HRT)*. Як результат цього потребуються значні земельні площі для влаштування таких каналів.

Одним із методів інтенсифікації приросту біомаси може бути її іммобілізація у реакторі. Іммобілізація, наприклад за допомогою альгінатного гелю, дозволяє збільшити концентрацію біомаси МКВ у воді до 3,3 кг/м$^3$. Експериментальні результати свідчать, що за таких умов у СВ після традиційного біологічного очищення вдається досягнути зменшення концентрації біогенних елементів протягом 6 годин перебування мікроводоростей *Scenedesmus obliquus* у культуральному середовищі [68]:

- за сполуками фосфору приведеним до $PO_4$ – з 1,1 г/м$^3$ до 0,07 г/м$^3$;
- за сполуками азоту приведеним до $NH_4$ – з 2,6 г/м$^3$ до 0,02 г/м$^3$.

Така іммобілізація також сприяє полегшенню видалення біомаси зі СВ після закінчення культивування. Можна використовувати гравітаційні методи, що є дешевшими і менш енергозатратними ніж коагулювання і центрифугування.

На сьогоднішній день існують технології культивування мікроводоростей у відкритих природних водоймах та у спеціальних установках – біореакторах чи біоконверторах, які також можуть бути відкритими та закритими.

Недоліками усіх відкритих водойм табіореакторів є те, що культивування в них можна проводити лише у теплу пору. Тобто така технологія може ефективно застосовуватися тільки у місцях з теплим кліматом. На процеси вирощування можуть негативно впливати також інші погодні фактори, неконтрольована зміна властивостей середовища (води), як то її забруднення, поява у воді різних організмів, зміна кислотності тощо.

Реактори відкритого типу виконують переважно у вигляді відкритих ємкостей з відносно тонким шаром води в якій розміщуються водорості. Не дивлячись на переваги (можливість створення оптимального середовища для вирощування, ефективного перемішування, автоматизації процесу тощо), вони мають ряд недоліків властивих відкритим водоймам (наприклад вплив несприятливих погодних умов).

Як приклад можна навести конструкцію фотоблока [77] у вигляді широкого прямокутного корита з невисокими стінками та дном, що не є плоским, а складається із поздовжніх площин, розташованих почергово під гострим та прямим кутами. В результаті цього дно має поздовжні гребені та впадини, а його поперечний переріз є пилоподібним. Уздовж гребенів розташовуються трубки, оснащені форсунками, направленими паралельно похилим площинам від гребенів до западин. Через форсунки пропускають газоповітряну суміш з умістом $CO_2$ (0,5 −1%). Напрямки газоповітряних струмин та профіль дна приводять до постійного барботажного перемішування біомаси в рідині. Природне або штучне освітлення падає на відкриту поверхню рідини і, завдяки малій товщині шару та перемішуванню, може освітлювати різні шари біомаси водоростей.

Одним із головних недоліків такого фотоблока, як і реакторів відкритого типу, є досить велика витрата $CO_2$ на одиницю готової культивованої біомаси. Для забезпечення доброї освітленості такий фотоблок повинен мати велику площу поверхні та малу глибину. Мікроводорості отримують необхідний $CO_2$ переважно з культуральної рідини. Виходячи з форсунок під певним тиском, $CO_2$ деякий час знаходиться у рідині, де його частина розчиняється. Частина, що не встигає розчинитися, піднімається на поверхню і виходить у атмосферу, тобто втрачається. Через те, що фотоблок є мілкий, а швидкість розчинення $CO_2$ у воді мала, то його частка, що втрачається виходом в атмосферу є досить значною.

Іншим істотним недоліком такого типу конструкцій є складність забезпечення неперервності процесу культивування.

Основні типи реакторів закритого типу можна назвати такі.

У вигляді прозорих колб та труб наповнених середовищем для вирощування та водоростями. Такі конструкції є менш чутливими до впливів погодних умов, проте мають інші недоліки. Доступ необхідного для фотосинтезу світла через прозорі стінки з часом ускладнюється через наліт на стінках, який утворюється зсередини, а зі збільшенням кількості мікроводоростей їх маса близько стінок теж ускладнює проходження світла до їх маси всередині. Показовим прикладом може служити установка [78], яка складається із кількох фотоблоків у вигляді прозорих посудин, розташованих на периферії плоского круглого піддону, тобто по колу. Всередині кільця (між посудинами) розташовується джерело штучного освітлення у вигляді лампи. В центрі піддона виконано отвір для установлення лампи у робоче положення. Освітлення може здійснюватися сонячним світлом чи лампою (за необхідності).

Недоліком таких установок можна назвати неможливість подачі $CO_2$ у культуральну рідину в процесі культивування. Це можна робити лише під час завантаження посудин. Проте розчинність $CO_2$ у воді обмежена, тому і продуктивність таких установок обмежується кількістю розчиненого $CO_2$. В таких фотоблоках також складно забезпечити неперервність процесу культивування та автоматизувати цей процес.

У вигляді великих баків з прозорого матеріалу. Вони взагалі, як правило, потребують штучного освітлення оскільки світло погано проникає у товщу мікроводоростей навіть за наявності перемішування.

У вигляді пірамідальних контейнерів [79], що являють собою відкриті горизонтальні корита з середовищем вирощування і водоростями, розташовані у пірамідальному корпусі з прозорого матеріалу. За наявності переваг притаманних відкритим коритам, ці установки не піддаються істотним впливам несприятливих погодних факторів. Однак недоліком таких установок можуть бути певні технологічні проблеми з насиченням середовища вуглекислим газом та ефективним його використанням, а також проблеми з забезпеченням безперервності процесу культивування.

Для збільшення швидкості росту і уможливлення вирощування мікроводоростей у промислових масштабах потрібно створити сприятливі умови. Однією з основних вимог є високий уміст розчиненого вуглекислого газу у культуральному середовищі. Розчинність $CO_2$ у воді збільшується із зростанням тиску. Проте як показали дослідження, високий тиск негативно впливає на ріст *Botryococcus Braunii*. Також потрібна оптимальна температура та уміст мінеральних речовин у середовищі.

Масового розповсюдження фотобіореактори ще не набули через наявність недоліків. Тому дослідження, пов’язані зі створенням більш досконалих конструкцій є на сьогодні актуальними.

### 6.3. Дослідження здатності мікроводоростей поглинати біогенні елементи зі стічних вод

В експерименті використано штам мікроводоростей *Euglena gracilis Klebs HPDP*-114. Використано синтетично приготовлені господарсько-побутові стічні води. Їх готували додаванням до культурального середовища  амонійного азоту ($N\text{-}NH_4^+$) та фосфору фосфатів ($P\text{-}PO_4^{3-}$) в різних концентраціях (табл. 6.2). як джерело амонійного азоту ($N\text{-}NH_4^+$) використовували $NH_4Cl$. Як джерело

фосфатів ($P\text{-}PO_4^{3-}$) використовували $KH_2PO_4$ . Мікроводорості витримували у стічних водах при температурі 24 ±2°С а також освітленості 3500 люкс. Використовувати чергування світлового і темного періодів у пропорції 16:8). Тривалість культивування складала складала 7 діб. Матеріали для аналізів відбирали на 0 та 7 доби експерименту.

*Таблиця* 6.2

**Склад господарсько-побутових стічних вод**

| Номер експерименту | Концентрація біогенних елементів | |
|---|---|---|
| | $N\text{-}NH_4^+$ | $P\text{-}PO_4^{3-}$ |
| 1 | 30.00 ±1.12 | 7.00 ±0.18 |
| 2 | 50.00 ±2.25 | 14.00 ±0.56 |
| 3 | 90.00 ±2.68 | 26.00 ±0.67 |

Концентрацію фосфору фосфатів і амонійного азоту у стічних водах визначали за загальноприйнятими в гідрохімії методами. Суху масу *Euglena gracilis* вимірювали ваговим методом [80]. Суспензію клітин мікроводоростей фільтрували через мембранний фільтр, попередньо висушений та зважений. Діаметр пор мембранного фільтру складав 0,45 мкм. Фільтр з затриманими на ньому водоростями висушували до постійної маси у термостаті при температурі 105 °С. Приріст біомаси визначали за формулою:

$$П = \frac{N - N_0}{T}$$

де: П – приріст біомаси мікроводоростей за період культивування (мг.);

$N_0$ – концентрація сухої біомаси мікроводоростей на початку культивування ($мг \cdot л^{-1} \cdot доба^{-1}$);

N – концентрація сухої біомаси мікроводоростей у кінці культивування ($мг \cdot л^{-1} \cdot доба^{-1}$);

Т – період культивування (7 діб).

Вміст хлорофілу *а* та суми каротиноїдів у біомасі мікроводоростей визначали екстрактно-спектрофотометричним методом [80]. Фільтр з біомасою мікроводоростей поміщали у фарфорову ступку і розтирали з додаванням кварцового піску та 90 % ацетону. Отриману масу центрифугували при 5000 тис. об/ хв. протягом 15 хв для відділення екстракту. Для спектрофотометрії

використовували спектрофотометр при довжинах хвиль 664, 647 і 480 нм. Довжини відповідають максимумам поглинання світла у 90% ацетоні відповідно хлорофілів *а*, *б* та каротиноїдів. Додатково вимірювали неспецифічне поглинання світла екстрактом при довжині хвилі 750 нм.

Вміст хлорофілу *а* визначали за формулою [81]:

$$П_{Cla} = \left(11{,}93 \cdot E664 - 1{,}93 \cdot E647\right) \cdot \frac{V_1}{V_2}$$

де: $П_{Cla}$ – вміст хлорофілу *а* (мг·л$^{-1}$);

$V_1$ – об'єм відділеного екстракту (см$^3$);

$V_2$ – об'єм профільтрованої проби стічних вод (дм$^3$);

Е664 – експериментально визначена оптична щільність екстракту при довжині хвилі 664 нм;

Е647 – експериментально визначена оптична щільність екстракту при довжині хвилі 647 нм.

Вміст каротиноїдів визначали за формулою [82]:

$$П_{Car} = \left(E480 - 3 \cdot E750\right) \cdot \frac{V_1}{V_2} \cdot S$$

де: $П_{Car}$ – вміст каротиноїдів (мг·л$^{-1}$);

$V_1$ – об'єм відділеного екстракту (см$^3$);

$V_2$ – об'єм профільтрованої проби стічних вод (дм$^3$);

Е480 – експериментально визначена оптична щільність екстракту при довжині хвилі 480 нм;

Е750 – експериментально визначена оптична щільність екстракту при довжині хвилі 750 нм.

S – товщина спектрофотометричної кювети, см (у проведених дослідах S = 1 см);

Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів здійснювали виражаючи у перерахунку на суху масу мікроводоростей.

*В*имірювання повторювали *тричі.* Статистичну обробку результатів здійснювали використтовуючи IBM SPSS Statistics Base v.22

Експериментальні результати свідчать про наступне. *Euglena gracilis протягом 7 діб практично повністю видаляє з досліджуваних стічних вод амонійний азот, а також фосфор фосфатів* (табл. 6.3).

*Таблиця 6.3*

**Зміна концентрації біогенних елементів у стічних водах**

| **Номер експерименту** | ***Початкова концентрація біогенних елементів, мг·л$^{-1}$*** | | ***Кінцева концентрація біогенних елементів, мг·л$^{-1}$*** | |
|---|---|---|---|---|
| | **$N\text{-}NH_4^+$** | **$P\text{-}PO_4^{3-}$** | **$N\text{-}NH_4^+$** | **$P\text{-}PO_4^{3-}$** |
| *1* | 30.00 ±1.12 | 7.00 ±0.18 | сліди | сліди |
| *2* | 50.00 ±2.25 | 14.00 ±0.56 | сліди | сліди |
| *3* | 90.00 ±2.68 | 26.00 ±0.67 | 0.44 ±0.01 | 0.05 ±0.02 |

*Здатність мікроводоростей поглинати* сполуки азоту та фосфору зі стічних вод визначається, у першу чергу, фізіологічними особливостями штамів. Перш за все інтенсивністю метаболізму, а також потребою в поживних речовинах. В процесі метаболізму мікроводорості використовують значну кількість азоту і фосфору для синтезу білків, нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, а також інших органічних сполук.

Приріст біомаси мікроводорості *Euglena gracilis* визначали за показниками накопиченням сухої маси *(табл. 6.4)*.

*Таблиця 6.4*

**Зміна концентрації сухої маси мікроводорості *Euglena gracilis* при культивуванні на стічних водах**

| **Номер експерименту** | **Концентрація сухої біомаси *Euglena gracilis*, мг·л$^{-1}$** | |
|---|---|---|
| | **Початок експерименту** | **Кінець експерименту** |
| 1 | 70.00 ±3.56 | 909.00 ±32.68 |
| 2 | 70.00 ±3.56 | 1127.00 ±51.25 |
| 3 | 70.00 ±3.56 | 1162.00 ±51.90 |

Як видно з таблиць 6.3 і 6.4, при початкових концентраціях: $N\text{-}NH_4^+$ – 30 мг·л$^{-1}$ та $P\text{-}PO_4^{3-}$ – 7 мг·л$^{-1}$, приріст сухої біомаси склав 120 мг·л$^{-1}$·добу$^{-1}$. При за концентрацій амонійного азоту 50-90 мг·л$^{-1}$ та фосфору фосфатів 14-26 мг·л$^{-1}$ цей приріст складав 151-156 мг·л$^{-1}$·добу$^{-1}$. Це свідчить про позитивну динаміку. Зі збільшенням концентрації біогенних елементів збільшується накопичення сухої біомаси мікроводоростей. Схожі результати отримувались при використанні мікроводорості *Euglena* sp. [83]. Під час короткотривалого культивування на господарсько-побутових стічних водах було зафіксовано видалення $N\text{-}NH_4^+$ на 98% (при вхідній концентрації 25 мг·л$^{-1}$) та видалення $P\text{-}PO_4^{3-}$ на 85% (при вхідній концентрації 16 мг·л$^{-1}$). При цьому швидкість приросту біомаси складала 132 мг·л$^{-1}$·добу$^{-1}$.

Фотосинтетичну активність мікроводорості *Euglena gracilis оцінювали за зміною величини вмісту пігментів. А саме* хлорофілу *а* та суми каротиноїдів (табл. 6.5).

*За період культивування Euglena gracilis на господарсько-побутових стічних водах з концетрацією* $N\text{-}NH_4^+$ та $P\text{-}PO_4^{3-}$ відповідно 30 та 7 мг·л$^{-1}$ відповідно вміст хлорофілу *а* у сухій біомасі збільшився вдвічі. При концентрації амонійного азоту 50–90 мг·л$^{-1}$, а також фосфору фосфатів 14–26 7 мг·л$^{-1}$ вміст основного фотосинтетичного пігменту збільшився у 2,5 рази.

*Таблиця 6.5*

**Зміна *величини вмісту пігментів* у біомасі *Euglena gracilis* при культивуванні на стічних водах**

| **Номер експерименту** | **Концентрація пігментів за сухою масою** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Хлорофіл *а*, мг·г$^{-1}$** | | **Каротеноїди, мг·г$^{-1}$** | |
| | **Початок експерименту** | **Кінець експерименту** | **Початок експерименту** | **Кінець експерименту** |
| 1 | 3.84±0.14 | 8.12±0.36 | 0.89±0.03 | *2.15*±0.06 |
| 2 | 3.84±0.14 | 9.53±0.44 | 0.89±0.03 | *2.47*±0.11 |
| 3 | 3.84±0.14 | 9.69±0.60 | 0.89±0.03 | *2.53*±0.15 |

Подібний результат спостерігається також і для каротиноїдів каротиноїдів. Їх вміст збільшився більше ніж у 2 рази. Це свідчить про досить високу фотосинтетичну активність *Euglena gracilis*. Разом з тим, приріст сухої біомаси упродовж культивування значно випереджав приріст фотосинтетичних пігментів. Протягом семи діб культивування збільшення сухої біомаси склало 13-16 разів. Особливістю евгленових мікроводоростей, що дозволяє інтенсивно розмножуватися у стічних водах, є здатність до міксотрофного способу живлення.

*Біомаса мікроводорості Euglena gracilis є перспективною для виробництва біопалива, оскільки характеризується високим вмістом ліпідів* [84]. *Культивування Euglena gracilis на господарсько-побутових стічних водах* забезпечує ефективне видалення біогенних елементів з них, зокрема фосфорних і азотних сполук.

### 6.4. Дослідження ефективності видалення біогенних елементів у фотобіореакторі

Метою дослідження є розроблення математичної моделі визначення ефективності видалення біогенних елементів зі стічних вод мікроводоростями у фотобіореакторі ідеального змішування закритого типу за різної ефективності роботи установок біологічного очищення. При застосуванні на очисних спорудах технологічних схем з фотобіореакторами ідеального змішування модель дозволить розраховувати необхідні тривалості обробки стічних вод мікроводоростями. Модель має враховувати необхідність досягнення заданих концентрацій біогенних елементів на виході з очисних споруд при різних ступенях їх видалення на попередніх етапах очищення.

В дослідженні використано методи прогнозування динаміки протікання хімічних реакцій, методи розрахунку хімічних реакторів з отриманням даних, необхідних для їх проектування, методи системного аналізу, аналізу матеріальних потоків тощо. Використано дані експериментальних досліджень, проведених з штамом мікроводоростей Chlorella vulgaris (FC-16) на реальних стічних водах при температурі 25 °C, а також проведених авторами зі штамом мікроводоростей

Euglena gracilis на штучних стічних водах. Штучні стічні води підготовлено за рецептурою BG 11, з додаванням $NH_4Cl$ і $KH_2PO_4$ за температури 27 $^0C$ та за штучного освітлення інтенсивністю 47-54 μmol photons $m^{-2}$ $s^{-1}$. Використовувались люмінесцентні лампи Philips TL-D 18W 54-765 G130. Досліди проводились у прозорих ємкостях 500 $см^3$. Вимірювання вмісту біогенних елементів проводились за стандартними методиками [30] з використанням спектрофотомктра DR/3900VIS виробництва компанії Hach.. Протягом експерименту pH середовища залишався в межах 7.5…8.0.

***Математична модель розрахунку термінів перебування стічних вод у робочій зоні фотобіореактора ідеального витіснення***

Авторами запропоновано конструкцію фотобіореактора у роботі [101]. Це фотобіореактор періодичної дії, який можна розглядати як реактор ідеального змішування. В ньому концентрація мікроводоростей та біогенних елементів у будь-який час є однаковою по усьому об’єму. Вона змінюється лише у часі. У робочу зону реактора періодично подається стічна вода з рециркульованою біомасою мікроводоростей. Після проходження етапу поглинання біогенних елементів завдяки процесам фотосинтезу стічна вода з мікроводоростями виділяється з робочої зони і надходить на сепарацію біомаси мікроводоростей.

Періодичні процеси за природою є нестаціонарними. З часом параметри процесу змінюються, відбувається зменшення концентрації речовин, що беруть участь у процесі і збільшення концентрації (накопичення) продуктів процесу.

Для визначення динаміки роботи фотобіореактора необхідно визначити час перебування суміші стічних вод з мікроводоростями у робочій зоні для досягнення необхідного зменшення концентрації біогенних елементів у стічній воді за рахунок метаболізму.

Базовим для розрахунку можна прийняти рівняння матеріального балансу біогенних елементів у робочій зоні [102]:

$$\frac{\partial S_i}{\partial t} = \left( -\upsilon_{Xi} \cdot \frac{\partial S_i}{\partial x} - \upsilon_{Yi} \cdot \frac{\partial S_i}{\partial y} - \upsilon_{Zi} \cdot \frac{\partial S_i}{\partial z} \right) + k_d \cdot \left( \frac{\partial^2 S_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 S_i}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 S_i}{\partial z^2} \right) + \mu_i, \quad (1)$$

де

– $S_i$ – концентрація і-ї біогенної сполуки у стічній воді;

– t – час;

– x, y, z –координати у просторі;

– $\upsilon_x$, $\upsilon_y$, $\upsilon_z$ –складові швидкості руху стічних вод;

– $k_d$ – коефіцієнт молекулярної і конвекитвної дифузії;

– $\mu_i$ –швидкість поглинання біогенних сполук.

Оскільки у реакторах періодичної дії у бідь який момент часу усі параметри є однаковими у всіх точках простору робочої зони, то похідні будь-якого порядку від концентрації біогенних сполук просторі будуть рівними нулю. Тобто:

$$\left(-v_{Xi}\cdot\frac{\partial S_i}{\partial x}-v_{Yi}\cdot\frac{\partial S_i}{\partial y}-v_{Zi}\cdot\frac{\partial S_i}{\partial z}\right)=0, \qquad (2)$$

$$k_d\cdot\left(\frac{\partial^2 S_i}{\partial x^2}+\frac{\partial^2 S_i}{\partial y^2}+\frac{\partial^2 S_i}{\partial z^2}\right)=0. \qquad (3)$$

Таким чином (1) можна записати

$$\frac{\partial S_i}{\partial t}=\mu_i, \qquad (4)$$

Якщо об’єм суміші стічних вод з мікроводоростями у робочій зоні вважати незмінним, то можна записати:

$$\frac{d\left[S_{i\ поч}\left(1-K_i\right)\right]}{\partial t}=\mu_i, \qquad (5)$$

де

– $S_{i\ поч.}$ –концентрація біогенних сполук на початку процесу;

– $K_i$ – ступінь видалення біогенної сполуки у кінці процесу.

(5) також можна записати:

$$dt = S_{i\ поч.} \cdot \frac{dK_i}{-\mu}. \qquad (6)$$

Швидкість поглинання біогенних сполук мікроводоростями можна записати у вигляді

$$-\mu_i = k_i \cdot S_i^n, \qquad (7)$$

де $k_i$ – константа швидкості поглинання біогенної сполуки, n – порядок реакції (якщо поглинання у результаті метаболізму розглядати як хімічну реакцію).

Формулу (6) з врахуванням (7) можна записати:

$$dt = S_{i\ поч.} \cdot \frac{dK_i}{k_i \cdot S_i^n}. \qquad (8)$$

З врахуванням (5) формулу (8) запишемо:

$$dt = S_{i\ поч.} \cdot \frac{dK_i}{k_i \cdot S_{i\ поч}^n (1 - K_i)^n}. \qquad (9)$$

Інтегрування формули (9) в інтервалі від $K_{i.поч}$ – (початковий ступінь видалення біогенної сполуки на початку процесу) до $K_i$ – (кінцевий ступінь видалення біогенної сполуки у кінці процесу) дає:

$$t = S_{i\ поч.} \int_{K_{i.поч}}^{K_i} \frac{dK_i}{k_i \cdot S_{i\ поч}^n (1 - K_i)^n}, \qquad (10)$$

або

$$t = \frac{1}{k \cdot S_{i.п.п}^{n-1}} \int_{K_{i.поч}}^{K_i} \frac{dK_i}{(1 - K_i)^n}. \qquad (11)$$

Поглинання біогенних елементів завдяки метаболізму мікроводоростей можна розглядати як реакцію першого порядку [103]. За таких умов інтегрування формули (11) дає вираз

$$t = \frac{1}{k} \ln \frac{1 - K_{i.поч}}{1 - K_i}. \qquad (12)$$

Таким чином можна стверджувати, що час перебування стічних вод у робочій зоні фотобіореактора залежить від необхідного ступеня вилучення біогенних елементів перед скиданням очищеної стічної води у водойми $K_i$. Він також залежить від початкового ступеня вилучення біогенних елементів на попередніх стадіях очищення (біологічне очищення) на вході у фотобіореактор $K_{i.поч}$. Якщо на попередніх стадіях очищення взагалі не відбувається видалення біогенних елементів, то початковий ступінь вилучення можна приймати рівним нулю ($K_{i.поч}$=0).

***Розрахунок термінів перебування стічних вод у робочій зоні фотобіореактора ідеального витіснення***

Визначимо необхідний час перебування стічних вод у робочій зоні реактора для досягнення необхідного ступеня видалення біогенних елементів.

Для визначення константи швидкості поглинання біогенної сполуки в конкретних умовах скористаємось [102]

$$k_i = \frac{\ln S_{i\ поч.} - \ln S_i}{t}. \qquad (13)$$

Для розрахунків використано експериментальні результати з біомасою штаму Chlorella Vulgaris (FC-16), наведені у [104]. Видалення біогенних елементів здійснювалось з реальних комунальних стічних вод з концентраціями: загального фосфору (P) – 5,07…7,58 мг/л; фосфатів ($PO_4$) – 3,09…5,15 мг/л; загального азоту (N) – 37,53…63,24 мг/л; амонійного азоту ($NH_4$) – 8,80…13,45 мг/л. Вносились концентрації мікроводоростей: 1 мг/л; 2 мг/л; 4 мг/л; 6 мг/л та10 мг/л. Процес здійснювався за температури 25±1 $^oC$, pH=7,5 та інтенсивності освітлення 100 моль×$с^{-1}$×$м^{-2}$. Представлені результати показують, внесення концентрацій від

2 мг/л до 10 мг/л дають дуже схожі результати видалення біогенних елементів. Результати видалення при концентрації 1 мг/л суттєво поступаються.

Результати свідчать, що за концентрації мікроводоростей 2 мг/л при початковій концентрації: загального азоту – 53,33 мг/л, амонійного азоту – 11,30 мг/л, а також тривалості перебування мікроводоростей у стічній воді 1 добу (24 години), кінцева концентрація склала: загального азоту – 8,84 мг/л, амонійного азоту – 1,00 мг/л. При початковій концентрації: загального фосфору – 6,23 мг/л, фосфатів – 4,04 мг/л та тривалості перебування мікроводоростей у стічній воді 1 добу (24 години), кінцева концентрація склала: загального фосфору – 4,20 мг/л, фосфатів – 2,17 мг/л.

Використано також експериментальні результати авторів з використанням біомаси Euglena gracilis. Видалення біогенів здійснювалось з синтетичних стічних вод. Вимірювалвсь концентрація фосфатів ($PO_4$). Початкова концентрація скала 5,33 мг/л. Вносилась концентрація мікроводоростей 120 мг/л. Процес здійснювався за температури 27±1 $^oC$, pH=7,5…8,0 та інтенсивності освітлення 47-54 моль$\times c^{-1}\times м^{-2}$. Кінцева концентрація склала 1,66 мг/л.

Константи швидкості поглинання загального азоту, амонійного азоту, загального фосфору та фосфатів, розраховані за 13, для мікроводорості Chlorella Vulgaris (FC-16) відповідно складуть: $k_N$ = 0,075; $k_{NH4}$ = 0,101; $k_P$ = 0,016; $k_{PO4}$ = 0,026. Для мікроводорості Euglena gracilis константа швидкості поглинання фосфатів склала $k_{PO4}$ = 0,049.

Розрахуємо необхідну тривалість перебування суміші стічних вод з мікроводоростями у робочій зоні фотобіореактора. Комунальні стічні води можуть містити різні концентрації азотних і фосфорних сполук залежно від походження стоків [35–37]. Для розрахунку приймемо середні концентрації. Приймемо також середні концентрації цих елементів після біологічного очищення, а також необхідні концентрації у очищених стічних водах що мають скидатися у водойми (табл. 6.6).

*Таблиця 6.6*

**Концентрації біогенних елементів у стічних водах на різних етапах очищення**

| Етап очищення стічних вод | Концентрація біогенних елементів, мг/л | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Загального азоту (N) | Амонійного азоту ($NH_4$) | Загального фосфору (P) | Фосфатів ($PO_4$) |
| Стоки без біологічного очищення | 55,0 | 20,0 | 9,0 | 7,2 |
| Стоки після біологічного очищення | 25,0 | 1,8 | 6,0 | 4,0 |
| Стоки, що скидаються у водойму | 15,0 | 0,5 | 2,0 | 1,0 |

Після різних етапів очищення ступені видалення біогенних елементів будуть різними. Їх значення наведено у табл. 6.7.

*Таблиця 6.7*

**Ступені видалення біогенних після різних етапів очищення**

| Етап очищення стічних вод | Ступені видалення біогенних елементів | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Загального азоту (N) | Амонійного азоту ($NH_4$) | Загального фосфору (P) | Фосфатів ($PO_4$) |
| Після біологічного очищення | 0,55 | 0,91 | 0,33 | 0,44 |
| Після додаткового очищення у фотобіореакторі | 0,73 | 0,98 | 0,78 | 0,86 |

При відсутності попереднього видалення біогенних елементів, тобто при нульовому початковому ступені очищення від біогенних елементів $K_{і.поч}$=0, необхідні ступені видалення мають складати відповідно: загального азоту $K_N$=0,73, $K_{NH4}$=0,98, $K_P$=0,78, $K_{PO4}$=0,86.

У цьому випадку необхідний час перебування стічних вод у робочій зоні фотобіореактора запропонованої конструкції при використанні штаму Chlorella Vulgaris (FC-16) відповідно складе:

$$t_N^0 = \frac{1}{0{,}075}\ln\frac{1-0}{1-0{,}73} = 17{,}46 \text{ год;}$$

$$t^0_{NH4} = \frac{1}{0,101}\ln\frac{1-0}{1-0,98} = 38,73 \text{ год};$$

$$t^0_{P} = \frac{1}{0,016}\ln\frac{1-0}{1-0,78} = 94,63 \text{ год};$$

$$t^0_{PO4} = \frac{1}{0,026}\ln\frac{1-0}{1-0,86} = 75,62 \text{ год}.$$

За наявності видалення біогенних елементів на очисних спорудах біологічного очищення зі ступенями видалення, наведеними у табл. 6.7 необхідний час перебування стічних вод у робочій зоні фотобіореактора відповідно складе:

$$t_{N} = \frac{1}{0,075}\ln\frac{1-0,55}{1-0,73} = 6,8 \text{ год};$$

$$t_{NH4} = \frac{1}{0,101}\ln\frac{1-0,91}{1-0,98} = 14,89 \text{ год};$$

$$t_{P} = \frac{1}{0,016}\ln\frac{1-0,33}{1-0,78} = 69,60 \text{ год};$$

$$t_{PO4} = \frac{1}{0,026}\ln\frac{1-0,44}{1-0,86} = 53,32 \text{ год}.$$

Оскільки диктуючим елементом у даному є фосфор, то необхідний час перебування стічних вод у робочій зоні реактора буде різним. При відсутності попереднього видалення біогенів – 94,63 год, при попередньому їх видаленні на етапі біологічного очищення – 69,6 год.

Необхідний час перебування стічних вод у робочій зоні при використанні штаму Euglena gracilis для досягнення необхідної концентрації фосфатів складе:

$$t^0_{PO4} = \frac{1}{0,049}\ln\frac{1-0}{1-0,86} = 40,12 \text{ год}.$$

$$t_{PO4} = \frac{1}{0,049}\ln\frac{1-0,44}{1-0,86} = 28,29 \text{ год}.$$

Визначимо ефективність процесу очищення як величину, обернену до часу перебування стічних вод у робочій зоні фотобіореактора для досягнення необхідного ступеня видалення біогенного елемента. Отримані результати

показують, що при використанні штаму Euglena gracilis ефективність видалення фосфатів у порівнянні з викоритсанням штаму Chlorella Vulgaris (FC-16) збільшується у 1,88 рази.

***Рекомендації щодо проектування фотобіореакторів ідеального змішування для використання в технологічних схемах очищення стоків.***

Запропонована математична модель дозволяє визначати ефективність видалення біогенних елементів зі стічних у фотобіореакторі. Модель дає можливість враховувати різну ефективність роботи установок попереднього біологічного очищення стічних вод перед їх подаванням у фотобіореактор.

При технологічному розрахунку фотобіореакторів ідеального змішування для використання у схемах очищення комунальних стічних вод можна запропонувати використання (12), (13). Розрахований за цими формулами час перебування стічних вод у фотобіореакторі дасть можливість розраховувати габаритні розміри його основних елементів. Він також уможливить розрахнок режимів роботи при різних концентраціях біогенних елементів на вході у очисні споруди, різні необхідні їх концентрації на виході з очисних споруд.

Для фотобіореактора запропонованої конструкції [101] об’єм робочої зони є пропорційним часу перебування стічних вод у ній. Тому для видалення фосфатів зі стічних вод доцільно використовувати штам Euglena gracilis оскільки у цьому випадку розрахований час перебування стінчих вод, а отже об’єм робочої зони запрпонованого фотобіореактора зменшується на 47%.

## 6.5. Опис технологічної схеми очищення стічних вод від біогенних елементів за допомогою мікроводоростей

Фотобіореактор закритого типу, запропонований авторами у [101], може бути структурною частиною традиційної схеми очищення господарсько-побутових близьких до них стоків. Традиційна схема, що складається з механічного і біологічного очищення, може включати (рис. 6.1, *а*) решітки (решітки-дробарки), пісковловлювачі, первинні відстійники, аеротенки (біологічні фільтри), вторинні

відстійники та установки для знезаражування скидних стічних вод. Можна запропонувати схему, яка включає окрім названих установок фотобіореактор, який встановлюється після вторинного відстійника [105] (рис. 6.1, *б*). Місце розташування фотобіореактора після вторинного відстійника пояснюється необхідністю доступу світла до біомаси мікроводоростей по всьому об'єму робочої зони. До вторинного відстіника стічна вода містить значну концентрацію активного мулу і не є прозорою.

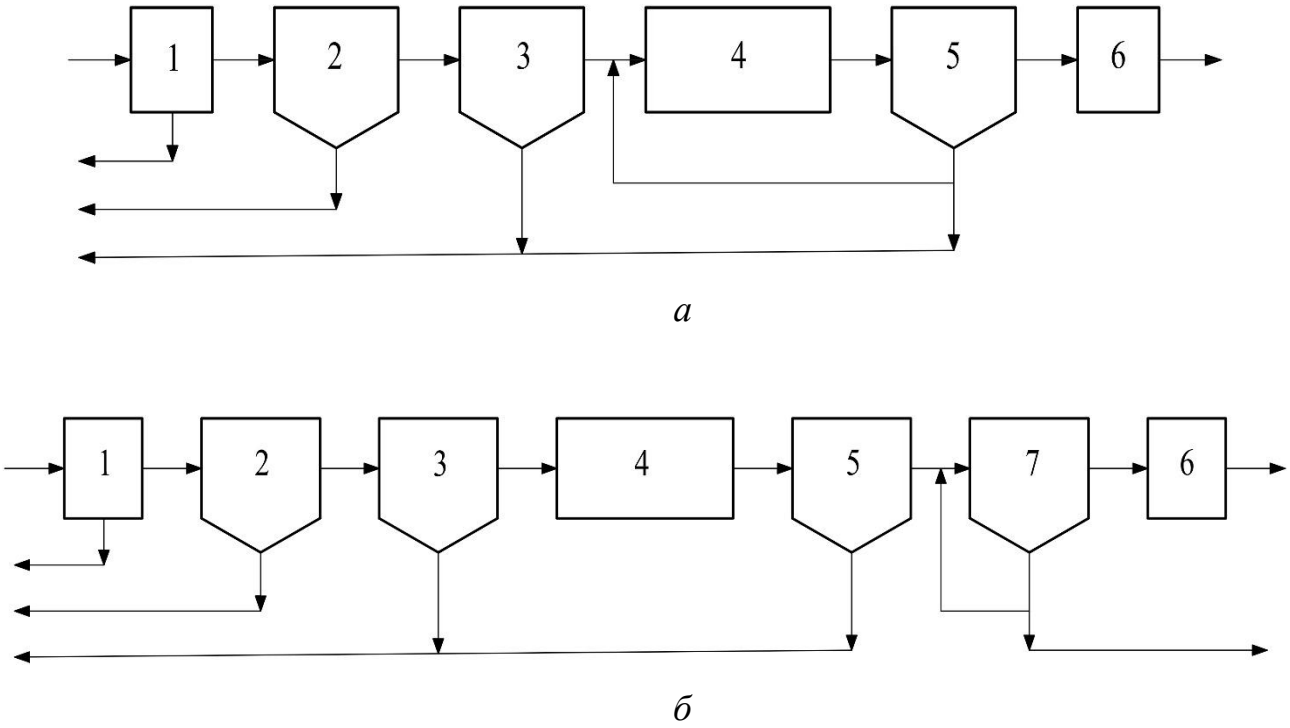



Рис. 6.1. Технологічні схеми очищення стічних вод (у тому числі від біогенних елементів): *а* – без фотобіореактора; *б* –з фотобіореактором; 1 – решітки; 2 – пісковловлювачі; 3 – первинні відстійники; 4 – аеротенки (біологічні фільтри); 5 – вторинні відстійники; 6 – установки для знезаражування скидних стічних вод; 7 – фотобіореактори

Фотобіореактор у цій схемі працює наступним чином. Біологічно очищена та освітлена стічна вода змішується з мікроводоростями і подається у робочу зону реактора. Суміш стічних вод з мікроводоростями витримується в робочій зоні реактора необхідний для наперед заданого зменшення концентрації біогенів час. При цьому підтримується стабільна температур та відбувається насичення

субстрату вуглекислим газом. Після завершення процесу очищення за допомогою сепараційного пристрою біомаса мікроводоростей та стічна вода розділяються відводяться з реактора. Очищення стічна вода подається на установку знезаражування, після чого відводиться на скидання. Біомаса мікроводоростей розділяється на рециркуляційну та надлишкову. Рециркуляційна біомаса подається у голову фотобіореактора, змішується з наступною порцією біологічно очищеної і освітленої стічної води, після чого суміш надходить у робочу зону і процес повторюється. Надлишкова біомаса відводиться як сировина для виробництва товарних продуктів.

Отримані результати свідчать про досить суттєве зменшення вмісту біогенних елементів у стічних водах і досягнення їх необхідних концентрацій на виході з фотобіореактора. Це пояснюється тим, що штам мікроводорості *Chlorella vulgaris* (FC-16) за рахунок метаболізму ефективно поглинає азотні та фосфорні сполуки в умовах, що створюються у фотобіореакторі. Для досягнення необхідного ефекту необхідний час перебування попередньо очищених стічних вод у робочій зоні фотобіореактора є значно меншим ніж час необхідний для перебування неочищених стічних вод. Це пояснюється тим, що у першому випадку концентрація біогенних елементів на вході у фотобіореактор є меншою. Запропонована модель це враховує.

Особливістю запропонованої у цьому дослідженні технологічної схеми порівняно з існуючими є те, що використання фотобіореактора дозволяє не тільки ефективно видаляти сполуки азоту і фосфору зі стічних вод, але і не створює осадів, що важко утилізуються. Якщо після етапу біологічного очищення стоки містять: загального азоту (N) – 25 мг/л; амонійного азоту ($NH_4$) – 1,8 мг/; загального фосфору (P) – 6,0 мг/л; фосфатів ($PO_4$) – 4,0 мг/л, то після обробки у фотобіореакторі ці значення знижуються до: 15 мг/л; 0,5 мг/л; 2,0 мг/л; 1,0 мг/л відповідно. Це суттєво зменшує навантаження на водойми, знижуючи їх евтрофікаційний потенціал. Одночасно, замість осадів отримують біомасу мікроводоростей, що може використовуватися для виробництва товарних продуктів.

Обмеженням цього дослідження є те, що в його основу покладено використання лише одного штаму мікроводоростей *Chlorella vulgaris* (FC-16). Але запропонована математична модель дозволяє застосовувати її для будь-яких штамів. Для цього необхідним є пробне культивування для експериментального визначення констант швидкості поглинання загального азоту, амонійного азоту, загального фосфору та фосфатів. Це можна робити або на модельних розчинах, або на реальних стічних водах. Обов'язковою умовою є забезпечення параметрів навколишнього середовища максимально наближених до реальних.

Недоліком використання фотобіореакторів може бути складність вибору ділянки для його розміщення. Існуючі очисні споруди часто скомпоновані таким чином, що перетікання стічної води між послідовно розташованими очисними установками відбувається самопливом за рахунок гравітаційних сил. При цьому розташування реактора в схемі очищення не може бути довільним. Він має бути розташованим після установок біологічного очищення. Отже, рекомендованим місцем розташування має бути безпосередня близькість від них. Вибір та підготовка ділянки досить значної площі з такими умовами, що вимагає ця установка, може тягнути за собою значні капітальні витрати. За наявності такої проблеми її можна вирішити шляхом розташування фотобіореактора на відстані від основних споруд. Подавання стічних вод до нього в такому випадку має здійснюватися за допомогою насосів напірними трубопроводами. Таке рішення вимагатиме додаткових експлуатаційних витрат на електроенергію. Остаточне рішення при проектуванні доцільно приймати на підставі техніко-економічного розрахунку.

Запропонована математична модель враховує динаміку поглинання мікроводоростями біогенних елементів. Проте вона не враховує динаміку приросту біомаси самих водоростей. В подальших дослідженнях доцільною є побутова моделі з врахуванням такого приросту. Оскільки біомасу можна розглядати як товарний продукт, то динаміка її приросту суттєво впливатиме на техніко-економічні показники впровадження запропонованої технологічної схеми.

# Розділ 7. Розробка методики утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів та твердих органічних (харчових) відходів з використанням ізольованих з проб, відібраних на сміттєзвалищах органічних відходів

## 7.1. Огляд методів утилізації органічних відходів

Врахування екологічного фактору є необхідною умовою інтеграції української економіки у світові економічні процеси з метою забезпечення її конкурентоспроможності. Перед українськими підприємствами постає важливе питання необхідності усвідомлення екологічних пріоритетів під час здійснення виробничої та господарської діяльності. Стало очевидним, що необхідно реорганізувати економіку таким чином, щоб промислова діяльність людини повністю інтегрувалася у ефективну екологічну інфраструктуру. Таким чином, дослідження процесу поводження з відходами транспорту в Україні та світі є на сьогодні актуальним.

Відомий спосіб переробки твердих побутових відходів шляхом переробки їх в компост у біобарабані. Після виходу з біобарабана компост піддають очищенню від домішок металів у магнітному сепараторі [98, 99]. Недоліком вказаного способу є наступне: під час отримання компосту з несортованого потоку ТПВ з продукту витягають тільки металеві компоненти. Скло, кераміка, шкідливі та токсичні компоненти ТПВ залишаються в отриманому продукті, через те компост не відповідає вимогам національних стандартів.

Інший спосіб утилізації ТПВ включає сортування відходів і подальшу їх переробку, при цьому спочатку здійснюють відділення органічної фракції, що легко розкладається у момент її утворення, яку потім направляють спеціальні контейнери – накопичувачі та на біохімічну переробку [100]. Потік відходів, що залишаються є стабілізованою сумішшю потенційних вторинних матеріальних ресурсів, зберігає кондицію до моменту сортування і подальшої утилізації, направляють на подальшу переробку. Проте недоліком цього способу є відсутність технологічної схеми подальшої переробки органічної фракції відходів,

що легко розкладається та відокремлена від загального потоку ТПВ у момент її утворення.

Недоліком багатьох способів є те, що вони використовуються тільки для очищення та рекультивації нафтозабруднених ґрунтів і не використовуються для комплексної деструкції та деградації, наприклад, органічних побутових відходів (або навпаки).

Перед нами була поставлена задача розширення області застосування цього способу шляхом його використання на полігонах ТПВ транспортної інфраструктури та можливості здійснення переробки відходів нафтопродуктів і твердих органічних відходів у відкритому (аборигенному) середовищі, використовуючи потенціал мікроорганізмів, яким притаманні широкі адаптаційні реакції в різних умовах довкілля, зокрема потужний синтез біологічно активних сполук.

Універсальною є методика утилізації органічних ксенобіотиків за допомогою мікробних матів, тобто комплексі технологій очищення та відновлення забруднених екосистем з використанням метаболічного потенціалу біоагентов. До складу мікробних матів входять різноманітні консорціуми, які беруть участь в гео- і біохімічних циклах в міліметровому масштабі [91]. В якості біоагентів можуть виступати бактерії, найпростіші водорості, гриби, рослини і нижчі тварини. основні переваги мікробіологічної біоремедіації полягають в її низькій вартості і високій ефективності. Завдяки активним біохімічних процесів, що відбуваються всередині матів, і таксономическому різноманітності складових, можна говорити про перспективність мікробних матів в біоремедіації.

Дослідження мікрорганізмів зі зразків зі звалищ транспортної інфраструктури м. Києва (наприклад, зразки № 3ВРЗ, №4Б та №5Б) показали можливість утворення біоплівок, подібних за структурою до мікробних матів. Проте у цьому напряму ще багато тестувань потрібно провести для створення ефективної методики та технології утилізації органічних відхродів за одпомогою мікробних матів.

## 7.2. Опис технологічної схеми утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів та твердих органічних (харчових) відходів з використанням ізольованих проб, відібраних на сміттєзвалищах органічних відходів з одночасною біоремедіацією полігонів відходів транспортної інфраструктури

Під час досліджень у рамках проєкту було виділено такі штами аборигенних мікроорганізмів, які здатні засвоювати вуглеводні рідких нафтопродуктів без утворення токсичних продуктів. Тобто, *для утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів та твердих органічних відходів запропоновано використовувати потенціал мікроорганізмів, яким притаманні широкі адаптаційні реакції в різних умовах довкілля, зокрема потужний синтез біологічно активних сполук.*

Поставлена задача удосконалити спосіб вирішується тим, що спосіб біоремедіації полігонів ТПВ містить операцію рекультивації полігону ТВП. Відповідно до способу, що заявляється, даний спосіб можна проводити як на міських полігонах ТПВ, так і на полігонах (сміттєзвалищах) транспортної інфраструктури. Подальшу обробку ТПВ проводять шляхом біологічного знешкодження органічних екотоксикантів ґрунту. Також паралельно проводять обробку розлитих на грунт (чи обробку залишків в тарі) дизельного палива, гасу та відпрацьованих моторних і трансмісійних олив шляхом їх біологічного знешкодження відокремленими та вирощеними в лабораторії культурами мікроорганізмів та нижчих форм грибів. Спочатку проводять активацію аборигенної мікрофлори з одночасним внесенням до тіла полігону певних компонентів з базовою основою біорозчинів глюкози, поверхнево-активних речовин, ензимів, іммобілізаторів із заздалегідь очищеним шляхом пропускання через реактор очищення фільтратом, з одночасним осадженням мулу і створенням оптимальних умов для розвитку мікроорганізмів. В окремих глибоких місцях активацію мікрофлори проводять композитними розчинами з можливістю забезпечення аеробного середовища в закритих пластах ґрунту.

Згідно одному з варіантів здійснення способу, проводять механічне рихлення і вносять до тіла полігону певні культури мікроорганізмів та нижчі форми грибів, також  при цьому, за можливості, певні культури мікроорганізмів та нижчі форми грибів вносять до осадженого мулу.

У способі, що заявляється, досягається задача розширення області його застосування шляхом можливості його здійснення для переробки ТПВ транспортної інфраструктури та залишків нафтопродуктів у відкритому середовищі полігонів (звалищ) транспортної інфраструктури за рахунок застосування процесу біоремедіації безпосередньо на місці, який включає комплекс розробок і технологій, завданням яких є використання біохімічного потенціалу аборигенних, адаптованих або модифікованих біологічних систем. Перш за все мікроорганізмів для деградації і детоксикації полютантів ТПВ транспортної інфраструктури та залишків дизельного палива, гасу і відпрацьованих олив.

Процеси біоремедіації можуть здійснюватися природними мікроорганізмами  шляхом стимуляції біодеградативної активності цих мікроорганізмів. Якщо у шарах звалищ відсутні такі мікроорганізми, здібні до деградації даних з’єднань, застосовують інтродукцію (ін’єкцію, внесення) туди мікроорганізмів-біодеструкцій, попередньо виділеними із звалищ транспортної інфраструктури міста Києва) та в подальшому селекційно вирощеними в лабораторних умовах.

У рамках виконання проєкту «Експериментально-аналітичні засади гарантування безпеки людини та суспільства удосконаленням технологій поводження з відходами у техносфері» за підтримки Національного фонду досліджень України у межах грантового проєкту № 2020.01/0242 *нами досліджено відходи звалищ транспортної інфраструктури міста Києва та відокремлено мікроорганізми, які рекомендуємо використовувати для обробки полігонів (звалищ) транспортної інфраструктури для здійснення способу, що патентуєьтся.* Для деструкції дизельного палива, гасу та відпрацьованих олив: бактерії *Rhodococcus erythropolis*; грибки *Fusarium sp*. та їх консорціум; бактерії

*Acinetobacter sp.*; дріжді *Candida malto*sa, бактерії *Dietzia* maris та їх консорціум; аборигенні форми мікроорганізмів. Для деструкції різних продуктів органічного синтезу: бактерії *Bacillus subtilis*; бактерії *Pseudomonas putida, Pseudomonas sp., Pseudomonas pseudoalcaligenes* та *Pseudomonas aeruginosa*; консорціум бактерій родів *Marinobacter, Halomonas* та *Idiomarina;* бактерії *Halomonas sp.* та бактерії *Pseudonocardia dioxanivorans;* бактерії *Acinetobacter calcoaceticus* та *Achromobacter*
*xylosoxidans;* бактерії родів *Bacillus, Pseudomonas, Kocuria, Stenotrophomonas, Proteus, Staphylococcus;* дріжджі *Geotrichum sp.* Для переробки твердих харчових відходів: бактерії Bacillus cereus; грибки родів *Aspergillus, Mucor, Penicillium* та *Neurospora;* гриби *Trametes versicolor*.

Обробку полігонів (сміттєзвалищ) транспортної інфраструктури (за аналогією можна також полігонів міських звалищ) мікроорганізмами рекомендовано проводити один раз на сезон протягом теплого періоду.

Таким чином, суть пропонованої технології відновлення забруднених екосистем полягає в максимальній мобілізації внутрішніх ресурсів екосистеми на відновлення своїх первинних функцій. Природні процеси відновлення природних систем тривалі за часом. Тож, стимулювання мікрофлори безпечними біологічно активними препаратами є одним з перспективних способів рекультивації і регенерації полігонів відходів.

Перевагою запропонованого способу біоремедіації полігонів відходів транспортної інфраструктури є комплексність (можливість спільної переробки декількох видів органічних відходів), екологічність (відсутність небезпечних, токсичних і небажаних компонентів під час реалізації способу, їх ліквідність).

На рис 7.1 показана технологічна схема процесу на ділянці біоремедіації полігонів відходів транспортної інфраструктури.

Спосіб реалізується таким чином. Спочатку проводять активацію аборигенної мікрофлори вносячи до тіла полігону компоненти з базовою основою розчинів поверхнево-активних речовин, глюкози, ензимів із створенням оптимального середовища для розвитку мікроорганізмів.

Одночасно здійснюють механічне рихлення і внесення (ін'єкцію) до ґрунту полігону в окремих глибоких місцях композитних розчинів з можливістю забезпечення аеробного середовища в закритих пластах. Далі вносять до тіла полігону комплекс певних культур мікроорганізмів та нижчі форми грибів. У випадку наявності на полігонах великих плям розлитих нафтопродуктів (дизельного палива, гасу чи відпрацьованої моторної та трансмісійних олив) чи насиченого нафтопродуктами ґрунту, окремо у ці місця вносять комплекс мікроорганізмів та нижчих форм грибів деструкторів нафтопродуктів з наступним рихленням ґрунту на глибину 5−10 см. Додатково також вносять певні культури мікроорганізмів та нижчі форми грибів до осадженого мулу.

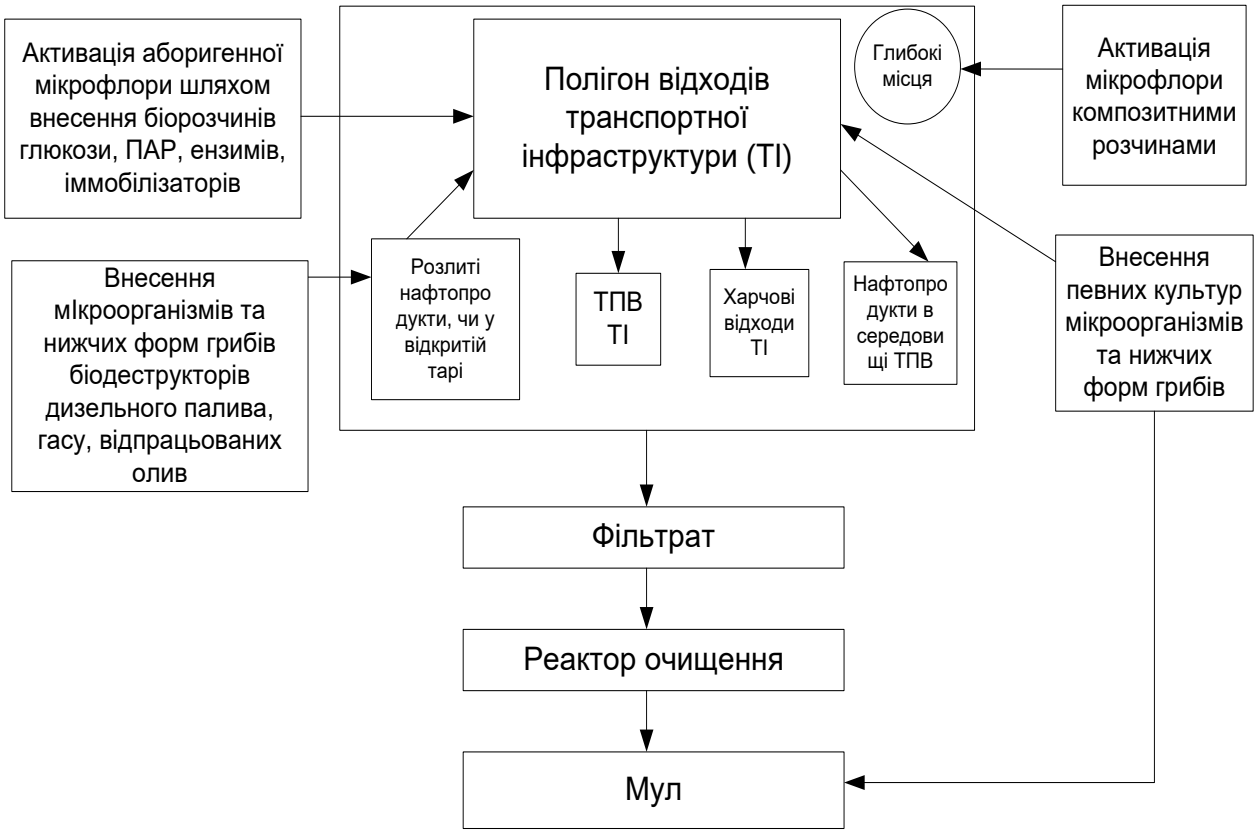



Рис. 7.1. Технологічна схема процесу на ділянці біоремедіації полігонів відходів транспортної інфраструктури

Процеси біоремедіації, рекультивації і регенерації територій полігону відходів транспортної інфраструктури забезпечують зниження навантаження на довкілля на локальній території, дозволяють використовувати речовини, наявні на місці.

# ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

**У разі виконання наукового проєкту виконано такі основні завдання**:

- проведено таксономічний аналіз грибів, ізольованих зі звалищ транспортної інфраструктури м. Києва;

- проведено порівняльну характеристику впливу фізико-хімічних властивостей паливно-мастильних матеріалів на життєдіяльність мікроорганізмів-деструкторів;

- досліджено здатність комплексу мікроорганізмів, ізольованих з міського звалища міста Києва до деструкції/деградації дизельного палива та гасу;

- досліджено механізм інтенсифікації деградації дизельного палива та гасу за різних температур;

- досліджено здатність мікроводоростей поглинати біогенні елементи зі стічних вод;

- проведено оцінку біотехнологічного потенціалу мікроорганізмів, ізольованих з міського звалища міста Києва, щодо знешкодження нафтопродуктів та твердих органічних відходів. Підготовлено відповідну аналітичну записку;

- розроблено алгоритм та методику виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів (дизельного палива, гасу) та продуктів харчування;

- розроблено методику утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів та твердих органічних (харчових) відходів з використанням ізольованих з проб, відібраних на сміттєзвалищах транспортної інфраструктури.

- підготовлено аналітичну довідку до Кабінету Міністрів України про стан, законодавчу та нормативну базу, морфологію, систему поводження з відходами транспортного сектору економіки у світі та в Україні;

- підготовлено аналітичну записку до Кабінету Міністрів України «Оцінка стану біологічної безпеки у транспортній інфраструктурі техносфери та біотехнологічного потенціалу мікроорганізмів з метою знешкодження рідких і твердих органічних відходів»;

- запропоновано класифікацію морфології відходів транспорту;

- розроблено електронний глосарій основних термінів і понять;

- розроблено електронну освітньо-популяризаційну платформу про систему поводження з відходами у техносфері;

- розроблено практичні рекомендації щодо комплексу заходів з метою утилізації відходів паливно-мастильних матеріалів (ПММ) (відпрацьованої моторної оливи, густих осадів дизельного пального, гасу) та твердих органічних (харчових) відходів в умовах різних температур;

- розроблено проєкт ДСТУ «Екологістика, утилізація та рециклінг. Техносфера. Транспорт. Інфраструктура»;

- розроблено проєкт ДСТУ «Визначення мікробіологічного ураження експлуатаційних матеріалів авіаційної техніки»;

- розроблено проєкт технологічної схеми утилізації відходів ПММ (відпрацьованої моторної оливи, густих осадів дизельного пального, гасу) та твердих органічних (харчових) відходів.

- розроблено проєкт технологічної схеми очищення стічних вод від біогенних елементів за допомогою мікроводоростей;

- підготовлено та видано монографію «Експериментально-аналітичне обґрунтування забезпечення мікробіологічної стабільності моторних і ракетних палив»;

- підготовлено електронний підручник «Технології захисту людини у техносфері. Екологістика у транспортній інфраструктурі» та його видання.

До однієї з глобальних екологічних проблем, яка притаманна м. Києву як і решті мегаполісів, належить проблема забруднення навколишнього середовища відходами виробництва, споживання та транспортної інфраструктури. Ці питання на сьогодні практично не вирішуються, що без сумніву призведе до виникнення нових екологічних проблем – забруднення ґрунтових вод токсичними відходами, утворення біогазу, зміна ландшафту та т. ін.

З точки зору питань екології міст, знешкодження відходів транспортної інфраструктури, безпеки життєдіяльності людини надзвичайної важливості та

гостроти набувають проблеми, пов'язані з пошкодженням найрізноманітніших антропогенно-трансформованих субстратів мікроскопічними грибами. Останні визнані головними агентами біопошкоджень в наземному середовищі.

У результаті виконання аналітичної роботи встановлено, що одним із стратегічних напрямків розвитку сучасної біотехнології в отриманні біологічно активних сполук (БАС) є використання потужного потенціалу мікроорганізмів, пошук та дослідження нових продуцентів БАС серед різноманіття мікроорганізмів. Різноманітні умови довкілля (високі або низькі показники температури, кислотності середовища, вологості, вмісту солей, металів, тощо) викликають адаптаційні зміни в мікроорганізмів, які супроводжуються посиленим синтезом так званих вторинних метаболітів, потенційних БАС.

*Біотехнології для захисту навколишнього середовища є маловідходними технологіями з екологічно безпечною технічною реалізацією процесу. ЇХ використання спрямоване на очищення довкілля від різного роду забруднювальних речовин і виробництва екологічно чистої продукції з можливістю рециклінгу вторинних ресурсних потоків. Тому вибір БАС має концептуальні основи, пов'язані з необхідністю глибоких знань у сфері фізіології та біохімічних процесів зростання і метаболізму біологічних об'єктів та обов'язковості їх санітарно-гігієнічного оцінювання.*

*Мікроорганізми, які можна використовувати для знешкодження твердих та рідких відходів дуже різні, їх спектр безперервно розширюється. Із розвитком промислових процесів відбувається накопичення нових видів відходів, що можуть бути знешкодженими та конвертованими в корисні продукти методами біотехнології. Біотехнологічні промислові напрямки на сьогодні розвиваються бурхливими темпами. Враховуючі проблему для України із сміттєзвалищами та відходами уцілому робить необхідним розроблення нетрадиційних, зокрема біотехнологічних способів їх перероблення.*

На основі аналітичних досліджень праць різних авторів та на основі власних досліджень встановлено, що з метою знешкодження рідких і твердих органічних відходів доцільно використовувати мікроорганізми, зокрема, гриби.

Також варто зауважити, що БАС цих мікроорганізмів, можуть широко застосовуватися в промисловості, медицині, сільському господарстві для знешкодження відходів цих промисловостей. Для вирішення питань продовольчої безпеки, збереження та відновлення природних ресурсів, зокрема родючості ґрунтів забруднених нафтопродуктами, доцільним є використання біотехнологій, що не порушують біологічної рівноваги в природі та сприяють ефективному розкладу забруднювачів без утворення токсичних продуктів деструкції.

За умов дії різноманітних чинників спостерігаються різні прояви адаптації організмів до стресових факторів. Проявом активної стратегії адаптації мікроорганізмів, яка дозволяє їм не тільки зберігати життєздатність, а також розмножуватися та розвиватися в широкому діапазоні впливу різноманітних факторів *довкілля*, є, зокрема, їхня здатність спрямовувати власні обмінні процеси у бік синтезу і накопичення окремих метаболітів, в активації неспецифічних захисних механізмів, тобто *використовувати власний потужний потенціал – продукувати важливі БАС.*

*Екзополісахариди мікроорганізмів можуть використовуватися як біосурфактанти в процесах детоксикації ґрунтів, забруднених токсичними металами, нафтопродуктами*. В останні десятиріччя в природоохоронних заходах набули значного поширення способи використання біологічних технологій, які є найбільш прийнятними внаслідок своєї екологічної безпеки, низької собівартості робіт і достатньо високої ефективності, що було неодноразово продемонстровано при вирішенні різних екологічних завдань. *Метаболічна універсальність вказаних мікроорганізмів грає важливу роль у важливих промислових процесах, а також в біологічному руйнуванні речовин, що забруднюють навколишнє середовище.*

Отже, мікроорганізми, стійкі до впливу нафтопродуктів можуть використовуватися в біоремедіаційних процесах, в технології очистки стічних вод, нафтопродуктами тощо. Технології, які при цьому можуть використовуються, не порушують біологічної рівноваги в природі, дозволяють

ефективно розкладати забруднювачі без утворення токсичних продуктів деструкції, відновлювати родючість ґрунтів.

Відомо, що більшість мікроорганізмів утворюють біоплівки – більше 99% всіх мікроорганізмів на Землі існують в таких угрупованнях. У них співіснують мікроорганізм різною ферментативною активністю, різними адаптивними властивостями тощо. Наймовірніше, що у виявлених нами комплексах, мікроорганізми також можуть існувати спільно тільки у складі біоплівок. Розширення даних про склад біоплівочних угруповань має сьогодні велике практичне значення щодо використанням таких «біоплівочних» мікроорганізмів в біотехнології.

Серед виявлених нами мікроорганізмів велику частку складають представники видів мікроскопічних грибів, небезпечних для здоров'я людини (види порядку *Mucorales, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, A. niger* var. *niger, Geotrichum candidum*). Заслуговують на особливу увагу виявлені нами чисельні представники дріжджів *Candida* spp. Та бактерій роду *Pseudomonas,* які потребують подальших досліджень.

*Резюме*: нами досліджено відходи звалищ транспортної інфраструктури міста Києва та відокремлено мікроорганізми, які рекомендуємо використовувати для знешкодження нафтопродуктів та твердих органічних відходів. Для деструкції дизельного палива, гасу та відпрацьованих олив: бактерії *Rhodococcus erythropolis*; грибки *Fusarium sp*. та їх консорціум; бактерії *Acinetobacter sp.*; дріжді *Candida maltosa*, бактерії *Dietzia maris* та їх консорціум; аборигенні форми мікроорганізмів. Для деструкції різних продуктів органічного синтезу: бактерії *Bacillus subtilis*; бактерії *Pseudomonas putida, Pseudomonas sp., Pseudomonas pseudoalcaligenes* та *Pseudomonas aeruginosa*; консорціум бактерій родів *Marinobacter, Halomonas* та *Idiomarina*; бактерії *Halomonas sp*. та бактерії *Pseudonocardia dioxanivorans*; бактерії *Acinetobacter calcoaceticus* та *Achromobacter xylosoxidans*; бактерії родів *Bacillus, Pseudomonas, Kocuria, Stenotrophomonas, Proteus, Staphylococcus*; дріжджі *Geotrichum sp*. Для переробки твердих харчових відходів: бактерії *Bacillus cereus*; грибки родів *Aspergillus, Mucor, Penicillium* та *Neurospora*; грибки *Trametes versicolor*.

Біологічні методи знешкодження відходів, зокрема органічного характеру, на сьогодні займають важливе місце у вирішенні проблеми утилізації відходів. Нами встановлено, що для оброблення деяких видів відходів потрібно проводити підбір штамів / консорціумів мікроорганізмів. Із мікроорганізмів, відібраних на звалищах транспортної інфраструктури м. Києва, виділено ті, які найкраще підходять для деструкції нафтопродуктів, продуктів органічного синтезу та перероблення твердих побутових відходів. Вцілому, неможливо встановити якісь закономірності, для конкретного випадку мікроорганізми потрібно підбирати окремо. Отримана інформація буде корисною під час підбору мікроорганізмів для перероблення нафтопродуктів, ТПВ та твердих харчових відходів.

**Публікації та апробації результатів роботи командою проєкту**

**Статті та розділи монографій у індексованих виданнях Scopus та Web of Since:**

1. Shkilniuk. I., A., Boichenko S. Biological Risk of Aviation Fuel Supply Systems, Decision andControl in Energy I. 2020.pp 179-200. https://doi.org/10.1007/978-3-030-48583-2_12

2. Yakovlava, A., Boichenko S. Energy Efficient Renewable Feedstock for Alternative Motor Fuels Production: Solutions for Ukraine. Systems, Decision andControl in Energy I. 2020.pp 247-259 https://doi.org/10.1007/978-3-030-48583-2_16

3. Velichko, S., Korokhin, V., Velikodsky, Y., Kaydash, V., Shkuratov, Y., Videen, G. Removal of topographic effects from LROC NAC images as applied to the inner flank of the crater Hertzsprung S, Planetary and Space Science, 2020, Vol. 193, Article 105090.

4. Sergii Shamanskyi (вклад 25%), Sergii Boichenko (вклад 15%), Victoria Khrutba (вклад 10%), Olena Barabash (вклад 10%), Iryna Shkilniuk (вклад 10%), Anna Yakovlieva (вклад 10%), Petro Topilnyckyi (вклад 10%), Lesia Pavliukh (вклад 10%). Increasing the efficiency of a photobioreactor operation in the technological scheme of waste water purification // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. – 2021. – № 6 (144). (Подано до друку, наявна довідка з редакції).

**Статті у фахових виданнях України:**

1. Бойченко С. В., Бойченко М. С., Шаманський С. Й. Застосування мембранних біореакторів для очищення стічних вод від біорезистентної фармацевтичної продукції. // Наукоємні технології. – 2020. - №1(45). – С. 67-77. DOI: 10.18372/2310-5461.45.14573.

2. Незбрицька І. М., Шаманський С. Й., Бойченко С. В., Харченко Г. В. Деякі аспекти застосування мікроводоростей для очистки стічних вод від сполук азоту та фосфору (огляд) // Гідробіологічний журнал. – 2020. – Т. 56 №6. – с. 65-83.

3. I. Trofimov, S. Boichenko. S. Shamanskyi Analysis of rocket fuels and problems of their application on the example of Ukraine / INDUSTRIAL AND TECHNOLOGY SYSTEMS: Technology and system of power supply //, – №6/1(56), – 2020. p. 19-27. (DOI: 10.15587/2706-5448.2020.218358).

4. Шкільнюк І.О., С.В. Бойченко, С.Й. Шаманський, О.О. Вовк. Оцінювання потенціалу мікроорганізмів до біодеструкції моторних палив з різними характеристиками // «ЕНЕРГЕТИКА: економіка, технології, екологія» –2021. – № 1. – с. 125 – 131.

5. Великодський Ю.І. Моніторинг, картографування та інвентаризація звалищ м. Києва та Київської області, що містять відходи транспортної інфраструктури / Ю.І. Великодський, І.Л. Трофімов, С.В. Бойченко // Наукоємні технології. – №3/2021. – С. 245-254. (DOI: 10.18372/2310-5461.51.15995).

6. B.Stepasiuk (вклад 30%), T.Haievska (вклад 20%), O.Spaska (вклад 10%), Yu.Bilokopytov S.Boichenko (вклад15%), A.Yakovlieva (вклад 10%). Catalytic processing of organochlorine wastes into valuable monomers // Catalis and petrochemestry. 2021, Vol.31, p. 41-47.

7. Бойченко С. В. (30%), Шкільнюк І. О. (50 %), Бахтин А. І. (20%). Вплив антиожеледних матеріалів на основі пропілента етиленгліколю на довкілля та об’єкти інфраструктури аеропортів. // Наукоємні технології. – № 1(49). – 2021. – С. 57-70. (DOI: 10.18372/2310-5461.49.15212).

8. Ivan Bondarenko (вклад 10%), Igor Dudar (вклад 10%), Olha Yavorovska (вклад 10%), Olha Ziuz(вклад 10%), Sergii Boichenko (вклад 15%), Ihor Kuberskyi (вклад 10%), Iryna Shkilniuk (вклад 20%), Bohdana Komarysta (вклад 5%), Iryna Dzhygyrey (вклад 5%), Vladyslav Bendiuh (вклад 5%). Development and laboratory tests of technology of localization of environmental pollution in the conditions of fire on natural garbage // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. – 2021. – № 6 (144). (Подано до друку, наявна довідка з редакції).

**Тези доповідей:**

1. Трофімов І.Л. Експериментально-аналітичні засади гарантування безпеки людини та суспільства удосконаленням технологій поводження з відходами у техносфері / І.Л. Трофімов, А.В. Яковлєва, І.О. Шкільнюк, С.Й. Шаманський, Т. О. Кондратюк, С.В. Бойченко // Проблеми хімотології. Теорія і практика раціонального використання традиційних і альтернативних палив і олив: III Міжнар. наук. практ. конф., (21 – 25 липня 2021 р.). – Камянець-Подільський, 2021. – С. 76.

2. Трофімов І.Л. Виділення комплексу та чистих культур мікроорганізмів, здатних до деструкції/деградації вуглеводнів нафтопродуктів та твердих органічних відходів із проб звалищ транспортної інфраструктури м. Києва. / Трофімов І.Л., Бойченко С.В., Шкільнюк І.О., Шаманський С.Й., Яковлєва А.В., Зелена П.П. // матеріали Національного форуму «Поводження з відходами в Україні: законодавство, економіка, технології». – Том 1. – 2021. – С. 88 – 94.

**Патенти:**

1. *Пат.* 149576 МПК B09B 3/00 Спосіб біоремедіації полігонів відходів транспортної інфраструктури / І.Л. Трофімов, С.В. Бойченко, І. О. Шкільнюк, А.В. Яковлєва // заявл. 07.07.21.– Чинний від 02.12.2021. Бюл. №48, 2021 р.

**Підручники:**

1. Бойченко С.В. Технологія захисту людини у техносфері. Екологістика у транспортній інфраструктурі / С.В. Бойченко, І.О. Шкільнюк, А.В. Яковлєва, І.Л. Трофімов, С.Й. Шаманський // https://www.ourboox.com/book-preview/1215633.

**Монографії та розділи у монографіях:**

1. Iryna Shkilniuk, Sergii Shamanskiy, Sergii Boichenko. Characteristics of the influence of motor fuel on the biodestructive potential of the microorganisms // Problemy eksploatacji i diagnostyki: Systemy i srodki transportu samochodowego, 18-20 September 2020: monograph. – Pzeszow, Poland, 2020. – P. 103-109.

2. Boichenko S., Yakovleva A., Lejda K., Kurdel P. Modern Road Transport´s Operational materials. Technical University of Košice, 2020. 279 p, ISBN: 978-80-553-3646-64 (монографія).

3. Boichenko S.V., Shkilniuk I.O. Cause-and-effect analysis of microbiological contamination of motor fuels and prospects for the rational use of biodegradation in the processes of recycling waste from the technosphere / Development of scientific, technological and innovation space in Ukraine and EU countries. – 3rd ed. – Riga, Latvia: “Baltija Publishing”, 2021. – P. 1 – 19. DOI: https://doi.org/10.30525/978-9934-26-151-0

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ


1. Проблема сміття. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.eco-live.com.ua/content/problema-sm%D1%96ttya.

2. ДБН В.2.4-2-2005. Полігони твердих побутових відходів. Основні положення проектування. – Київ, 2005. – 33 с.

3. Попович В. В. Пожежна небезпека стихійних сміттєзвалищ та полігонів твердих побутових відходів / В. В. Попович // Пожежна безпека зб. наук. праць. – 2012. – № 21. – С. 140-147.

4. Хром'як У.В. Вплив ЛКП «Збиранка» на навколишнє середовище та основні принципи створення нового полігону / У.В. Хром'як, А.Б. Тарнавський // Науковий вісник НЛТУ України. – 2016. - № 26.05. – С.227 - 232.

5. www.vtorma.ua.

6. Попович В. В. Полігони твердих побутових відходів у вироблених кар'єрах, ярах, траншеях і особливості їх фітомеліорації. / В. В. Попович // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів : РВВ НЛТУ України. – 2012. – Вип. 22.11. – С. 119-128.

7. В гармонії з природою. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.rav.com.ua/ua/useful_know/clauses/world_trash/trash_world_u.

8. Трофімов І.Л. Оцінка впливу відходів побутового походження на екологічний стан України / І.Л. Трофімов // Східно-Європейський журнал передових технологій (Екологія). – 2014. – вип. 2/10№68/2014. – С. 25–29.

9. Попович В. В. Система роздільного збору сміття та її вплив на процеси деструкції на полігонах твердих побутових відходів / В. В. Попович //Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів : РВВ НЛТУ України. – 2012. – Вип. 22.7. – С. 49−57.

10. Dashtban, M. Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residues; Opportunities & Perspectives // International Journal of Biological Sciences. – 2009. – V.5. – P.578-595.

11. Бойченко С.В. та інш. Транспортна екологія: навчальний посібник \ О.І. Запорожець., С.В. Бойченко, О.Л. Матвєєва, С.Й. Шаманський, С.М. Маджд, Т.І.Дмитруха; за заг. ред. Бойченка С.В., – К. НАУ, 2017. – 507 с.

12. Гутаревич Ю.Ф., Зеркалов Д.В. та інш. Екологія та автомобільний транспорт: Навчальний посібник 2-ге видання, перероблене та доповнене. – К.: Арістей. – 2008. – 296 с.

13. Samson R.A. Introduction to food and airborne fungi. 7th edit. / R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad // Wageningen, the Netherlands, printed by Ponsen and Looyen. – 2004. – 389 p.

14. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы / В.И. Билай, Э.З. Коваль – Киев: Наук. думка, 1988. – 204 с.

15. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. / Пер. с англ. К.Л. Тарасова, Ю.Н. Ковалева /Под ред. д-ра мед. наук И.Р. Дорожковой . – М. : Мир, 2001. – 468 с.

16. Domsch K.H., Gams W., Traute-Heidi Anderson. Compendium of soil fungi / Vol. 1. – Academic Press, 1980. – 859 p.

17. Ellis M.B. More Dematiaceous Hyphomycetes. – CAB Inter. Mycological Institute Kew, Surrey, England, 1989. – 507 p.

18. Samson R.A., Frisvad J.C. Penicillium subgenus Penicillium: new taxonomic schemes. Mycotoxins and other extrolites //Studies in Mycology, 2004. – N 49. – 257 p.

19. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the fungi. 9th ed./ P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.C. David, J.A. Stalpers – Egham: CABI Bioscience; Utrecht: Centraalbureau voor Shimmelcultures, 2001. – 624 p.

20. www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp.

21. ДСТУ ГОСТ 31072:2006 Нафта і нафтопродукти. Метод визначення густини, відносної густини та густини в градусах API ареометром.

22. ДСТУ ГОСТ 33-2003 Нафтопродукти. Прозорі і непрозорі рідини. Визначення кінематичної в`язкості і розрахунок динамічної в`язкості.

23. ДСТУ ГОСТ 4333:2018 Нафтопродукти. Методи визначення температур спалаху та займання у відкритому тиглі.

24. ГОСТ 11802-88 Топливо для реактивных двигателей. Метод определения термоокислительной стабильности в статических условиях.

25. ГОСТ 21261-91 Нефтепродукты. Метод определения высшей теплоты сгорания и вычисление низшей теплоты сгорания.

26. Шкільнюк І. О., Бойченко С. В., Терещенко В. А. Дослідження корозійної активності авіаційного палива з мікробіологічним забрудненням / “Systems and means of motor transport”, № 6 Seria: Transport (Poland). 2015. P.269–274.

27. Бирштехер Е. Нафтова мікробіологія. Пер. з англ. під ред. М. Ф.Двалі // Гостоптехиздат, 1967, 314 с.

28. Genner, C. and Hill, E. C., 1981. Fuels and oils. In: A. H. Rose, (ed.),Economic Microbiology, Vol. 6, Microbial Biodeterioration, London, Academic Press, pp. 260–306.

29. Бойченко С. В., Шкільнюк І. О., Новак А. О. Систематизація видового складу мікробіологічної фази у складі авіаційних палив / Наукоємні технології. – 2014. – Том 21. № 1. 2014. – С. 5–9.

30. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія: підручник.– К.: НУХТ. 2004. – 471 с.

31. Загальна мікробіологія та вірусологія: навч. Посібник / Ястремська Л. С., Малиновська І. М. – К.: НАУ. 2017 – 232 с.

32. Козлова І.П., Радченко О.С., Степура Л.Г., Кондратюк Т.О. Геохімічна діяльність мікроорганізмів та її прикладні аспекти: навч. посібник. – К.: Наук. думка, 2008. – 528 с.

33. Скрибачилин В.Б., Лаптева Е.А., Михайлова Л.К. О биоповреждении топлив / Химия и технология топлив и масел. 1983. № 12. С. 29-30.

34. Кривушина А. А. Микромицеты в авиационном топливе / Автореферат. 2012.

35. McVea G.G., Solly R.K. Control of fuel microorganisms with magnetic devices: laboratory investigation with Hormoconis resinae // Aircraft Materials Technical Memorandum. 1991. No. 408. P. 1–11.

36. Rafin C., Veignie E. Hormoconis resinae, the kerosene fungus: Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. Springer International Publishing AG, 2018. P. 16–21.

37. Кривушина А.А., Чекунова Л.Н., Мокеева В.Л. Морфологические особенности штаммов «керосинового» гриба Hormoconis resinae при росте в авиационном топливе и на питательных средах // Микология и фитопатология. 2019. №1. С. 26–32.

38. А. А. Васильева, Л. Н. Чекунова, Е. Н. Биланенко, А. В. Качалкин, А. В.Полякова. Особенности вида Monascus floridanus p. f. cannon & e. l. barnard, выделенного из авиационного топлива / Микробиология, 2012, том 81, № 2, с. 266-272.

39. Passman F. J. Microbial contamination and its control in fuels and fuel system / International Biodeterioration and Biodegradation, 81. - 2013. – P.: 88-104.

40. Кулик Н. С., Аксенов А. Ф., Яновский Л. С., Бойченко С. В., Запорожец А. И. Авиационная химмотология: топлива для авиационных двигателей. Теоретические основы и инженерные применения: учебник. – К.: НАУ, 2015. – 560 с.

41. Park, P. B., 1975. Biodeterioration in aircraft fuel systems. In: D. W. Lovelock and R. J. Gilbert, (eds.), Microbial Aspects of the Deterioration of Materials, The Society for Applied Bacteriology Technical Series 9. London, Academic Press, pp. 105–126.

42. Hill E. C. and Thomas, A. R., 1975. Microbiological aspects of supersonic aircraft fuel. In: Proceedings of the 3rd International Biodegradation Symposium. pp. 157–174.

43. Егоров Н. С., Вишнякова Т. П., Гречушкина Н. Н., Власова И. Д., Мыльникова С. И., Азова Л. Г. Поражаемость микроорганизмами нефтяных дистиллятных топлив и их защита / Биологические повреждения

строительных и промышленных материалов. – К.: Наукова думка. –1978. – С. 136-146.

44. Boychenko S., Shkilnuk I., Turchak V. The problems of biopollution with jet fuels and the way of achiving solution / Transport. – 2008. – № 23 (3). – P. 253–53. Brock, T. D., Smith, D. W. and Madigan, M. T., 1984. Biology of Microorganisms, 4th Edition. Englewood CliƤs: (Prentice-Hall).

45. Hill, E. C. and Hill, G. C., 2000. Detection and remediation of microbial spoilage and corrosion in aviation kerosene - from refinery to wing. In: LASH 2000, the 7th International Conference on Stability and Handling of Liquid Fuels. pp. 1–25.

46. Neihof, R. and May, M., 1983. Microbial and particulate contamination in fuel tanks on naval ships. International Biodeterioration Bulletin 19(2), 59–68.

47. А. Н. Ножевникова, Е. А. Бочкова, В. К. Плакунов / Мультивидовые биопленки в экологии, медицине и биотехнологии /Микробиология, том 84, № 6. - 2015, С.: 623-644.

48. Тимергазина И. Ф., Переходова Л. С. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами / Нефтегазовая геология. Теория и практика. – 2012. – №1. – С. 2–17.

49. Билай В. И., Коваль Э. З. Рост грибов на углеводородах нефти. Киев.: Наук. Думка, 1980. – 340 с.

50. Марінцова Н. Г., Журахівська Л. Р., Губицька І. І., Болібрух Л. Д., Курка М. С., Новіков В. П. / Біологічна хімія: підручник. – Львів: Видавництво НУ «Львівська політехніка», 2009. – 324 с.

51. Biodegradation of crude oil and n-alkanes by fungi isolated from Oman / A. Elshafie // Marine Pollution Bulletin, 54,11. 2007. P.1692-1696.

52. Robbins J.A. Levy R. A review of the microbiological degradation o fuel / Directory of Microbicides for the Protection of Materials. Kluwer Academic publishers. 2004. – P.: 177-202.

53. Ralf Rabus [et all ]. Anaerobic Microbial Degradation of Hydrocarbons: From Enzymatic Reactions to the Environment / MicrobiolBiotechnol 2016;26:5–28. P.: 5-28.

54. K. E. Peters, Kenneth Eric Peters, C. C. Walters, J. M. Moldowan. The Biomarker Guide, 2.

55. Н. С. Верхоляк, Т. Б. Перетятко. Використання ароматичних сполук бактеріями. Аеробна й анаеробна деструкція / Біологічні студії, 2018: 12(2); 135–156.

56. Gibson J., Harwood C. S. Metabolic diversity in aromatic compound utilization by anaerobic microbes. Annu. Rev. Microbiol, 2002; 56: 345–369.

57. ГОСТ 9.023 Единая система защиты от коррозии и старения. Топлива нефтяные. Метод лабораторных испытаний биостойкости топлив, защищенных противомикробными присадками. Издательство стандартов, 1974 – 8 с.

58. Бойченко С., Пушак А., Топільницький П., Лейда К. Моторні палива: властивості та якість: підручник. – К.: «Центр учбової літератури», 2017. – 324 с.

59. Яковлєва А. В., Бойченко С. В. Застосування біопалив для повітряно-реактивних двигунів з метою покращення їх екологічних характеристик / Авиационно-космическая техника и технология. – 2012. – №7. – С. 60–64.

60. Yakovlieva A. (2020) Anti-wear Properties of Jet Fuel with Camelina Oils Bio-Additives / Yakovlieva A., Trofimov I., Boichenko S., Kuszewski H., Lejda K. // TRANSBALTICA XI: Transportation Science and Technology. TRANSBALTICA 2019. Lecture Notes in Intelligent Transportation and Infrastructure. Springer, Cham. p. 601−609. (**Scopus,** https://doi.org/10.1007/978-3-030-38666-5_63, Online ISBN 978-3-030-38666-5, Publisher Name Springer, Cham).

61. Pasqualino, J.C., Montanйa, D., Salvady, J., 2006. Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. Biomass and Bioenergy 30(10), 874−879.

62. Srensen, G., Pedersen, D.V., Nшrgaard, A.K., Sшrensen, K.B., Nygaard, S.D. Microbial growth studies in biodiesel blends / Bioresource Technology 102(8). – 2011. – P.: 5259-5264.

63. OECD. Emerging Risksto Water Supplies: Best Practice for Improved Management and Preparedness to Protect Public Helth. 2005. URL: http://www.oecd.org/sti/biotechnology.

64. Funari E., Testai E. Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. C*ritical Reviews in Toxicology*. 2008. vol. 38. pp. 97-125.

65. Sudhakar K., Premalatha M. Theoretical Assessment of Algal Biomass Potential for Carbon Mitigation and Biofuel Production. *Iranical Jornal of Energy and Environmen*t. 2012. №3. P. 232–240.

66. Manea R. G., Ardelean I. I. Nitrogen and Phosphorus Removal from Municipal Wastewater Using Cinsortia of Photosynthetic Microorganisms. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies. 2016. Vol. XX. P. 286–292.

67. Singh R., Birru R., Sibi G. Nitrogen Removal Efficiencies of Chlorella Vulgaris from Urban Wastewater for Reduced Eutrophication. *Journal of Environmental Protection*. 2017. №8. P. 1–11.

68. Whitton R., Amandine L. M., Pidou M., Ometto F., Villa R. and Jefferson B. Influence of microalgal N and P composition on wastewater nutrient remediation. Water Research. 2016. V. 91. p. 371 – 378.

69. Craggs R., Lundquist T. and Benemann J. Wastewater treatment and algal biofuel production. Borowitzka M. A. Moheimani N. R. Algae for Biofuels and Energy. Springer, Dordrecht. 2013. pp. 153 – 163.

70. Choi H. J. and Lee S. M. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2015. V. 38 (4). pp. 761-766.

71. Ruiz-Martinez A., Serralta J., Romero I., Secco A., and Ferrer J. Effect of intracellular P content on phosphate removal in Scenedesmus sp. Experimental study and kinetic expression. Bioresource Technology. 2015. V. 175. pp. 325−332.

72. Reynolds C.Ecology of Phytoplancton. Cambrige. Cambrige University Press. 2006. p. 550.

73. Pittmana J. K., Dean A. P., Osundeko O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technol*. 2011. V. 102. I. 1. p. 17–25.

74. Yang J., Xu M., Zhang X., Hu Q., Sommerfeld M., Chen Y. Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance. *Bioresource Technol*. 2011. V. 102. I. 1. p. 159–165.

75. Shamanskyi S., Boichenko S. Development of Environmentally Safe Technological Water Disposal Scheme of Aviation Enterprise. С. Й. Шаманський, С. В. Бойченко. *Восточно-европейский журнал передовых технологий*. 2016. №6/10(84). С. 49–57.

76. Wu Y. H., Hu H. Y., Yu Y., Zhang T. Y., Zhu S. F., Zhang X., Lu Y. Microalgal species for sustainable biomass. Lipid production using wastewater as resource. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2014. V. 33. p. 675–688.

77. Алексеев В. В., Чекарев К. В. Солнечная энергетика (перспективы развития). Москва. 1991. 64 с.

78. Патент Российской Федерации RU2203938, М кл. C12M/302. №2001130851/13 Богданов Н. И., Сидорин А. Г. Установка для выращивания одноклеточных водорослей. Заявл. 14.11.2001. Опубл. 10.05.2003.

79. Кравченко І. П. До питання доцільності вирощування і використання мікроводоростей для виробництва моторних біопалив. Green Energy. Міжнародна науково-практична конференція: 17–19 липня 2012. Київ. 2012. С. 55–63.

80. Nezbrytskaya I.N., Kureyshevich A.V. Changes in the Content of Photosynthetic Pigments in Representatives of Chlorophyta and Cyanoprokaryota at a High Temperature. Hydrobiol. J. 2015. Vol. 51, N 4. P. 46–56.

81. Jeffrey S.W. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton / S.W. Jeffrey, F.H. Humphrey // Biochem. Physiol. Pflanz. – 1975. – Vol. 167. – P. 171–194.

82. Parsons T.R. Discussion of spectrophotometric determination of marineplant pigments and carotinoids / T.R. Parsons, J.D.H. Strickland // J. Marine. Res. – 1963. – Vol. 21, N 3. – P. 155–163.

83. Mahapatra, D. M., Chanakya, H. N., & Ramachandra, T. V. (2013). Euglena sp. as a suitable source of lipids for potential use as biofuel and sustainable wastewater treatment. Journal of Applied Phycology, 25(3), 855–865. doi:10.1007/s10811-013-9979-5

84. Toyama, T., Hanaoka, T., Yamada, K. et al. Enhanced production of biomass and lipids by Euglena gracilis via co-culturing with a microalga growth-promoting bacterium, Emticicia sp. EG3. Biotechnol Biofuels 12, 205 (2019). https://doi.org/10.1186/s13068-019-1544-2.

85. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учеб. пособие/ Под ред. Д. Г. Звягильцева. –М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

86. Федоренко В.Н. Выделение и оценка биотехнического потенциала микроорганизмов для утилизации нефтяных загрязнений северных морей. – Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Москва, 2016.

87. Р.А. Желдакова, В.Е Мямин Фитопатогенные микроорганизмы: Учебно-методический комплекс. – Минск, БГУ, 2006

88. Фурзікова Т. М. та ін. Мікробіологія. Практикум: - Київ: Фітосоціоцентр, 2006. – 210 с.

89. Юмина Ю.М. Біоплівка гетеротрофних бактерій як чинник біопошкоджень захисного покриття «Полікен 980-25. – Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук. – Київ, 2010. – 140 с.

90. Волченко Н.Н., Карасева Э.В. Скрининг углеводоокисляющих бактерий – продуцентов поверхностно-активных веществ биологической природы и их применение в опыте по ремедиации нефтезагрязненной почвы и нефтешлама// Биотехнология. – 2006. - №2. – с. 45-60.

91. Pactick C. Hallenbeck. Modern Topics in the Photo-trophic Prokaryotes. Switzerland: Springer International Publ., 2017, 492 p.

92. Roeselers G., van Loosdrecht M.C.M., Muyzer G. Phototrophic biofilms and their potential applications // Journal of Applied Phycology. 2008. Vol. 20. P. 227-235. DOI: 10.1007/s10811-007-9223-2

93. Safi J., Awad Y., El-Nahhal Y. Bioremediation of Diuron in Soil Environment: Influence of Cyanobacterial Mat. // American Journal of Plant Sciences. 2014. Vol. 5. P. 1081-1089. DOI: 10.4236/ajps.2014.58120

94. Cohen Y. Bioremediation of oil by marine microbial mats. International Microbiology. 2002;5(4):189-193. DOI: 10.1007/s10123-002-0089-5

95. Zalar P. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments /P. Zalar1, G.S. de Hoog, H.-J. Schroers, P.W. Crous, J.Z. Groenewald, N. Gunde-Cimerman //Studies in Mycology. – 2007. –58. – P. 157–183.

96. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. / Пер. с англ. К.Л. Тарасова, Ю.Н. Ковалева /Под ред. д-ра мед. наук И.Р. Дорожковой . – М. : Мир, 2001. – 468 с.

97. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the fungi. 9th ed./ P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.C. David, J.A. Stalpers – Egham: CABI Bioscience; Utrecht: Centraalbureau voor Shimmelcultures, 2001. – 624 p.

98. Патент SU 1713925 A1. Спосіб отримання брикетового палива з побутового сміття.

99. Патент RU 2210437, МПК B 09B 3/00. Способ переработки твёрдых бытовых отходов в компост. опубл. 20.08.2003.

100. Патент UA 58436, МПК B 09B 3/00. Спосіб комплексної утилізації твердих побутових відходів. опубл. 11.04.2011. Бюл. №7.

101. Pavliukh, L., & Shamanskyi , S. . (2021). A Photobioreactor for Microalgae-Based Wastewater Treatment. Proceedings of the National Aviation University, 87(2), 57–64. https://doi.org/10.18372/2306-1472.87.15721

102. Брянкин К. В., Утробин Н. П., Орехов В. С., Дьячкова Т. П. (2006). Общая химическая технология. – Тамбов: Издательство ТГТУ, 175. https://www.tstu.ru/book/elib/pdf/2006/bryankin.pdf

103. Kandilian R., Taleb A., Heredia V., Cogne G., Pruvost J. (2019). Effect of light absorption rate and nitrate concentration on TAG accumulation and productivity of *Parachlorella kessleri* cultures grown in chemostat mode. Algal Research, Vol. 39, 101442, https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02533870/document

104. Choi H-J. and Lee S-M. (2012) Effects of Microalgae on the Removal of Nutrients from Wastewater: Various Concentrations of Chlorella vulgaris. Environmental Engineering Research, 1, 3-8. http://dx.doi.org/10.4491/eer.2012.17.S1.S3

105. Shamanskyi S. I. Book Chapter. Environment-Friendly Technology of Airport's Sewerage / S. I. Shamanskyi, S. V. Boichenko // Advances in Sustainable Aviation. – under general editorship of Tahir Hikmet Karakoç, C. Ozgur Colpan, Yasin Şöhret. – Springer International Publishing AG 2017. – pp. 161-175. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-67134-5_11.