

Міністерство освіти і науки України  
Запорізький національний університет

О.Ф. Рильський, Ю.Ю. Петруша, К.О. Домбровський

## **ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ**

Навчальний посібник  
для здобувачів третього рівня вищої освіти (ступеня доктора філософії)  
освітньо-наукової програми «Екологія»

Затверджено  
Вченою радою ЗНУ  
Протокол № 6 від 31.01.23 р.

Запоріжжя  
2023

УДК 502/504:602.4(075.8)  
P509

Рильський О.Ф., Петруша Ю.Ю., Домбровський К.О. Екологічна біотехнологія: навчальний посібник для здобувачів третього рівня вищої освіти (ступеня доктора філософії) освітньо-наукової програми «Екологія». Запоріжжя : ЗНУ, 2023. 83 с.

Навчальний посібник містить теоретичний матеріал з екологічної біотехнології, тестові завдання, посилання на літературні джерела та глосарій. Цей посібник сприятиме кращому засвоєнню, поглибленню та систематизації здобувачами набутих знань, необхідних у подальшій практичній діяльності фахівця, щодо основ розроблення біотехнологічних процесів захисту довкілля та біохімічного перероблення відходів, методів реалізації біотехнологічних виробництв екологічного спрямування в різних галузях промисловості та сільському господарстві.

Призначений для здобувачів третього рівня вищої освіти (ступеня доктора філософії) освітньо-наукової програми «Екологія» та здобувачів ступеня вищої освіти магістра спеціальності «Екологія» освітньо-професійної програми «Екологія».

Рецензент

*В.О. Лях*, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри генетики та рослинних ресурсів Запорізького національного університету

Відповідальний за випуск

*О.Ф. Рильський*, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри загальної та прикладної екології і зоології Запорізького національного університету

## Зміст

ВСТУП .....	4
Тема 1. Вступ в екологічну біотехнологію .....	5
Тема 2. Використання бродіння і інших типів метаболізму .....	21
Тема 3. Виробництво біогазу. Біохімія та мікробіологія процесу метаногенезу .....	28
Тема 4. Виробництва, основані на одержанні мікробної біомаси .....	40
Тема 5. Виробництво молочнокислих продуктів і пропіоновокисле бродіння ..	46
Тема 6. Аеробні методи мікробіологічної очистки стічних вод .....	58
Тема 7. Анаеробні методи мікробіологічної очистки стічних вод .....	66
Тема 8. Найновітніша система біологічної очистки води – біоконвеєр .....	72
Глосарій .....	78
Використана література .....	81
Рекомендована література .....	81
Інформаційні ресурси .....	82

## ВСТУП

Курс «Екологічна біотехнологія» належить до обов'язкових компонентів циклу професійної підготовки здобувачів третього рівня вищої освіти (ступеня доктора філософії) освітньо-наукової програми «Екологія».

**Метою** вивчення навчальної дисципліни «Екологічна біотехнологія» є формування у аспірантів комплексу знань щодо основ розроблення біотехнологічних процесів захисту довкілля та біохімічного перероблення відходів, методів реалізації біотехнологічних виробництв екологічного спрямування в різних галузях промисловості та сільському господарстві, а також забезпечення відповідного рівня методичної компетентності в галузі фундаментальних досліджень, на яких базуються різні біотехнологічні виробництва.

Основними **завданнями** вивчення дисципліни «Екологічна біотехнологія» є:

- засвоєння знань про аеробні та анаеробні методи очищення стічних вод;
- очищення стічних вод від поверхнево-активних речовин;
- виробництво біогазу;
- вироблення навичок підбору способу біотехнологічної переробки певного виду відходів і побічних продуктів сільського господарства та промисловості.

Значна увага при викладанні дисципліни приділяється формуванню системи знань та уявлень, що мають значення для практичного використання і лежать в основі тих біотехнологічних процесів, у яких застосовуються штами промислових мікроорганізмів з корисними властивостями.

Особлива увага приділяється вивченню фундаментальних принципів і технічних рішень біологічних технологій, які застосовуються у системі захисту навколишнього середовища від антропогенного навантаження і забруднень.

Основою для опанування цього курсу є навчальні дисципліни бакалаврату та магістратури «Екологія мікроорганізмів з основами мікробіології», «Біологія», «Техноекологія», «Біотехнологічні аспекти раціонального природокористування», «Водопостачання та поліпшення якості води».

Основне призначення навчального посібника – формування у аспірантів теоретичної бази професійної підготовки щодо вільного орієнтування у розв'язанні практичних завдань із застосування біологічних технологій; формування наукового практичного світогляду, аналітичного мислення, що сприятимуть вирішенню глобальних проблем сьогодення: екологічних, продовольчих і охорони здоров'я людини шляхом впровадження новітніх біотехнологічних процесів.

*За підсумками вивчення курсу аспірант повинен знати:*

- питання з історії біотехнології;
- основні схеми і способи біологічного очищення стічних вод;

- способи біотехнологічної переробки відходів і побічних продуктів сільського господарства та промисловості;
- біотехнологічні методи захисту навколишнього середовища від забруднень;
- види виробництв, заснованих на використанні мікробної біомаси.

Згідно з вимогами освітньо-наукової програми аспіранти повинні досягти таких *результатів навчання (компетентностей)*:

- користуватися основною, додатковою та довідковою літературою з питань екологічної біотехнології, термінами біотехнології;
- користуватися вивченими схемами при виборі необхідних біотехнологій на практиці;
- складати типову схему біотехнологічного виробництва;
- визначати методи очистки доквілля з використанням біотехнологічних процесів.

## **Тема: ВСТУП В ЕКОЛОГІЧНУ БІОТЕХНОЛОГІЮ**

**Мета:** сформувати поняття про роль і місце екологічної біотехнології серед інших наук, закріпити знання з історії становлення біотехнології.

### План

1. Поняття про біотехнологію як науку. Її галузі.
2. Галузі застосування біотехнології.
3. Історія біотехнології.
4. Предмет, цілі та завдання екологічної біотехнології.
5. Хімічна основа реалізації біопроектів екологічних біотехнологій.
6. Застосування екологічної біотехнології.
7. Пріоритетні напрями досліджень в екологічній біотехнології.

**Основні терміни і поняття:** біотехнологія, екологічна біотехнологія, промислова мікробіологія, біоагент, біоконверсія.

**Біотехнологія** (*βιοτεχνολογία* від грецької *bios* – життя, *techne* – майстерність і *logos* – навчання) – це наука про живі організми і біологічні процеси, які використовують у промисловому й сільськогосподарському виробництві. Це також міждисциплінарна галузь, що виникла на стику біологічних, хімічних і технічних наук. Термін «біотехнологія» відноситься до широкого комплексу методів конструювання нових живих організмів для забезпечення потреб людини, починаючи з модифікації рослин і тварин шляхом штучного відбору і гібридизації.

Уперше термін «біотехнологія» застосував угорський інженер Карл Ерек 1917 року, але використовувати його в сучасній мові стали недавно, оскільки раніше замінювали словами «промислова мікробіологія» або «технічна біохімія». До 1970 року поняття «біотехнологія» використовувалося, головним чином, у харчовій промисловості і сільському господарстві. Починаючи з 70-х років, учені застосовують його відповідно до нових лабораторних методів, таких, як рекомбінація ДНК і культивування клітин і тканин *in vitro*.

Основну частину БТ становить промислова мікробіологія. Це наука про мікробіологічні процеси і їх практичне застосування для отримання промисловим способом цінних продуктів життєдіяльності мікроорганізмів, їх біомаси як білкового продукту, про отримання окремих корисних речовин або препаратів, які використовуються в різних галузях економіки.

Систематизувати галузі сучасної біотехнології (рис. 1.1) – завдання не з легких, оскільки біотехнологічну продукцію можна розділити за принципом «до якої галузі належить виробництво цільового продукту» і за принципом «яка галузь має потребу в ньому». Наприклад, серед основних напрямків галузі промислової біотехнології виділяють виробництво ферментів (відноситься до харчової та сільськогосподарської БТ), кормових добавок (відноситься до сільськогосподарської БТ), біодеградантів (належить до екологічної БТ),

полісахаридів для більшої віддачі пластів (відноситься до геологічної БТ) і біопластику (відноситься до медичної, харчової та сільськогосподарської БТ).

Біотехнологію (БТ) використовують при розв'язанні багатьох практичних питань, пов'язаних з підвищенням ефективності охорони здоров'я людей і тварин, збільшенням продовольчих ресурсів та забезпеченням промисловості сировиною, використанням рентабельних поновлювальних джерел енергії і організації безвідходних виробництв, зменшенням шкідливих антропогенних впливів на довкілля та в інших галузях діяльності людини (таблиця 1.1).

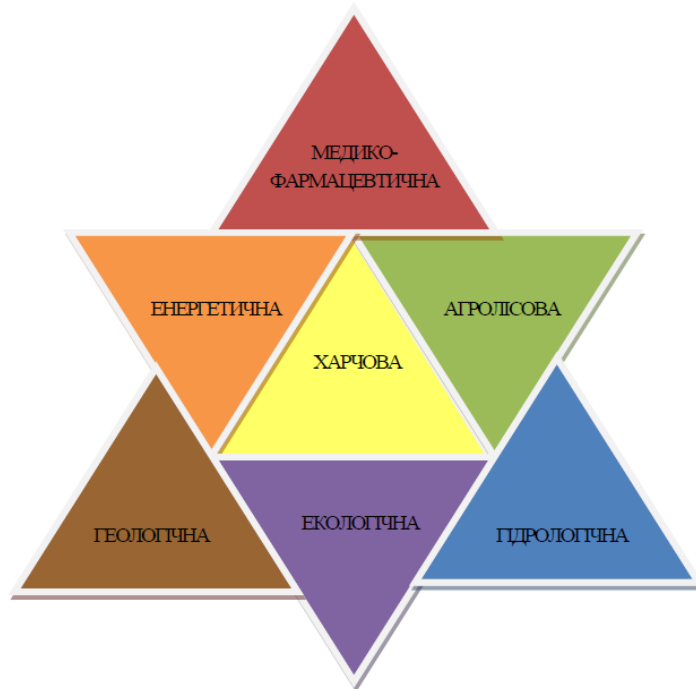


Рисунок 1.1 – Класифікація біологічних технологій

Таблиця 1.1

Основні галузі застосування біотехнології

Галузь застосування	Приклади
1. Охорона довкілля	Відновлення якості вжитої води; біосинтез води; біологічне структурування води; попередження забруднення повітря; відновлення якості ґрунту.
2. Медицина, охорона здоров'я, фармакологія	Антибіотики, ферменти, амінокислоти, кровозамінники, алкалоїди, нуклеотиди, імунорегуляторні препарати, протиракові і противірусні препарати, нові вакцини, гормональні препарати (інсулін, гормон росту), моноклональні антитіла для діагностики, дослідження природи раку і процесів старіння людського організму, продукти для дієтичного харчування.

3. Отримання хімічних речовин	Етилен, пропілен, бутилен, окислені вуглеводні, органічні кислоти, терпени, феноли, акрилати, полімери, ферменти, продукти тонкого органічного синтезу, полісахариди.
4. Тваринництво	Удосконалення кормових раціонів (виробництво білка, амінокислот, вітамінів, кормових антибіотиків, ферментів, заквасок (для силосування), ветеринарних препаратів (антибіотики, вакцини і т. п.), гормонів росту, створення високопродуктивних порід, пересадка запліднених яйцеклітин та ембріонів, маніпуляції над ембріонами.
1. Рослинництво	Біораціональні пестициди, бактеріальні добрива, гібереліни, виробництво безвірусного посадкового матеріалу; створення високопродуктивних сортів і гібридів стійких до хвороб, посухи, заморозків, засоленню ґрунтів.
6. Рибне господарство	Кормовий білок, ферменти, антибіотики. Очищення ґрунтів.
7. Харчова промисловість	Білок, амінокислоти, замінники цукру (аспаратат, глюкозофруктовий сироп), полісахариди, органічні кислоти, нуклеотиди, ліпіди, переробка харчових продуктів.
8. Енергетика і видобування корисних копалин	Спирти, біогаз, жирні кислоти, аліфатичні вуглеводи, водень, уран, а також інтенсифікація добування нафти, газу, вугілля, штучний фотосинтез, біометалургія, добування сірки.
9. Важка промисловість	Покращення технічних характеристик каучуку, бетонних, цементних, гіпсових розчинів, моторних палив; антикорозійні присадки, змазки для прокатки чорних і кольорових металів, технічний білок і ліпіди.
10. Легка промисловість	Покращення технології переробки шкіри, виробництво технічної сировини, вовни, паперу, парфумно-косметичних виробів; отримання біополімерів, штучної шкіри і вовни і т.п.
11. Біоелектроніка, космонавтика, екологія	Біосенсори, біочіпи. Створення замкнених систем життєзабезпечення в космосі. Утилізація сільськогосподарських і побутових відходів, біодеструкція токсичних речовин, що важко розкладаються (пестицидів, гербіцидів, нафти); створення замкнених технологічних циклів, виробництво нешкідливих пестицидів, полімерів, які легко руйнуються.
12. Наукові дослідження	Генно-інженерні і молекулярно-біологічні дослідження (ферменти рестрикції ДНК, ДНК і РНК-полімерази, ДНК і РНК-лігази, нуклеїнові кислоти, нуклеотиди і т.п.), медичні дослідження (засоби діагностики, реактиви і т.п.), хімія (сенсори, реактиви).

У 1984 р. в Мюнхені голландський вчений Є. Хаувінк поділив історію біотехнології на п'ять етапів або ер (таблиця 1.2).



## Історія біотехнології

Ера	Здобутки
Допастерівська ера (до 1865 р.)	Використання спиртового і молочнокислого бродіння при отриманні пива, вина, хлібопекарських і пивних дріжджів, сиру. Отримання ферментативних продуктів і оцту. Виробництво пороху (селітри).
Післяпастерівська ера (1866 – 1940)	Виробництво етанолу, бутанолу, ацетону, гліцеролу, органічних кислот і вакцин. Аеробна очистка каналізаційних вод. Виробництво кормових дріжджів із вуглеводів.
Ера антибіотиків (1941–1960)	Виробництво пеніциліну та інших антибіотиків шляхом глибинної ферментації. Культивування рослинних клітин і одержання вірусних вакцин. Мікробна трансформація стероїдів.
Ера керованого біосинтезу (1961–1975)	Виробництво амінокислот за допомогою мікробних мутантів. Одержання чистих ферментів. Промислове використання іммобілізованих ферментів і клітин. Анаеробна очистка каналізаційних вод і одержання біогазу. Виробництво бактеріальних полісахаридів.
Ера нової біотехнології (після 1975 р.)	Використання генної і клітинної інженерії з метою одержання агентів біосинтезу. Одержання гібридів, моноклональних антитіл, гібридів із протопластів і меристемних культур. Трансплантація ембріонів.

Відкриття і розробки, які допомагали виникненню і розвитку біотехнології (таблиці 1.3-1.7).

## Допастерівська ера (до 1858 року)

Рік	Розробки
1665 р.	Зроблено опис клітинної структури деяких рослинних тканин, які спостерігалися за допомогою системи лінз (Р. Гук).
1673 р.	За допомогою примітивного мікроскопу можна побачити одноклітинні організми, через 10 років було побачено бактерії.
1759–1780 рр.	Одержано у чистому вигляді ряд органічних кислот: винна, молочна, яблучна, щавлево-оцтова, лимонна, бензойна.
1789 р.	Одержана оцтова кислота в кристалічному вигляді, так звана льодяна оцтова кислота (Т. Ловиць).
1795 р.	Перша успішна вакцинація людини – вакцинація проти віспи (Е. Дженнер).

1831 р.	У результаті спостереження за допомогою мікроскопу зроблено висновок про те, що ядро є найважливішою й незамінною частиною клітини (Р. Браун).
1836 р.	Опубліковано спостереження, що в осадах, які залишаються після бродіння, містяться частинки, здатні до розмноження (К. де Латур).
1838– 1845 рр.	Розроблена теорія клітин, згідно якої структурною і функціональною одиницею рослин і тварин є клітина, яка містить ядро (М. Я. Шлейден, Т. Шванн, Р. Вірхов).
1857 р.	Доведено, що спиртове бродіння відбувається тільки в присутності живих дріжджів. Початок мікробіології як дисципліни біологічних наук (Л. Пастер).

Таблиця 1.4

## Післяпастерівська ера (з 1858 до 1940 року)

Рік	Розробки
1859 р.	Описана матеріальна теорія еволюції живої природи (Ч. Дарвін).
1865 р.	Експериментально обумовлено і сформульовано закони спадковості (І. Г. Мендель).
1875– 1879 рр.	Відкрито заплідненість яйцеклітини і злиття двох проноклеусів (О. Гергівич, Г. Фоле).
1875 р.	Розроблений метод чистих культур мікроорганізмів, що гарантує присутність в інокуляті тільки певного виду мікроорганізмів (Р. Кох).
1881 р.	Одержано перші чисті культури грибів (О. Бефельд).
1885 р.	Доведено, що клітини курячого ембріону зберігають життєздатність у сольовому розчині поза тілом тварин. Перше дослідження анабіозу тварин (Е.П. Ру).
1886 р.	Перші комплексні дослідження фізіології грибів – початок нової дисципліни – мікології (А. де Барі).
1887 р.	Перші спроби використати антагонізм мікробів з метою захисту від інфекційних захворювань (А. Павловський).
1888– 1901 рр.	Установлена фіксація атмосферного азоту мікроорганізмами – бульбочковими бактеріями (М. Бейєринк, Х. Хелрігель, Х. Вільфарт).
1893 р.	Установлена здатність пліснявих грибів синтезувати лимонну кислоту (К. Веллер).
1894 р.	Створений перший ферментний препарат, одержаний із пліснявого гриба, що виріс на вологому рисі (І. Такаміне).
1897 р.	Установлено, що безклітинні екстракти дріжджів здатні розщеплювати цукри з утворенням діоксиду вуглецю і спирту. Закладено основи ензимології (Ф.К. Бюхнер).

1905 р.	Винайдений метод хроматографії на папері (М.С. Цвет).
1908 р.	Створена єдина теорія імунітету (І.І. Мечников, П. Ерліх).
1910 р.	Перше вдале застосування бактеріальних інсектицидів (С.М. Метальников). Доведена здатність специфічних вірусів сприяти виникненню деяких різновидів ракових захворювань – сарком (П. Раус).
1911–1920 рр.	Сформульована хромосомна теорія спадковості (Т.Х. Морган).
1914 р.	Запропоновано активований мул для очищення стічних вод (Арден, Локкет)
1925 р.	Установлена можливість штучного мутагенезу мікроорганізмів (грибів) під впливом рентгенівського опромінювання (Г.А. Надсон, Г.С. Філіпович).
1926 р.	Отримано перший фермент у кристалічному вигляді – уреазу – і доведено, що цьому білку властива каталітична активність (Д. Самнер).
1928 р.	Експериментально доведена здатність пліснявих грибів синтезувати антибактеріальні речовини (А. Флемінг).
1931 р.	Створений перший мікроскоп з використанням потоку електронів, що просвічує (М. Кнолл, Е. Руска).
1933 р.	Винайдений метод культивування мікроорганізмів. З цього часу почалося конструювання більш складної ферментаційної апаратури, що дало можливість використовувати у промисловості метод глибинного культивування (А.І. Клуйвер, Л.Х. Перквін).
1933 р.	Початок використання електрофорезу для розділення білків у розчині (Д. Гізеліус).
1934 р.	Представлена перша докладна рентгенограма білка – кристалів ферменту пепсину (Дж. Бернал).
1936 р.	Опублікована теорія різноманітних рівнів складності організації матерії (Нідхем).
1938–1945 рр.	Відкритий процес аеробного ресинтезу аденозинтрифосфорної кислоти (В. А. Енгельгардт).
1938 р.	Створений електронний мікроскоп (М. Арден).
1939 р.	Установлена здатність деяких мутантів дріжджів асимілювати парафіни та інші вуглеводні. Початок використання у мікробіологічній промисловості нетрадиційних видів сировини (Т.А. Таусон).

Таблиця 1.5

Ера антибіотиків (з 1941 до 1960 р.)

Рік	Розробки
1942 р.	Сформульовано вчення про антибіотики, введено поняття і термін

	«антибіотики» (С.А. Ваксман).
1944 р.	Відкритий стрептоміцин (Б.М. Дуггер).
1944 р.	Установлено, що ДНК представляє генетичну інформацію і переносить її при трансформації клітин (О.Т. Ейвері, К. Мак-Мод, М. Мак-Карті).
1948 р.	Відкритий хлортетрациклін (Б.М. Дуггер).
1948 р.	Установлений стимулюючий ефект кукурудзяного екстракту на ріст мікроорганізмів (це перший комплексний стимулятор промислового значення) (Р.Д. Когхілл, А.І. Маєр).
1950–1960 рр.	Фундаментальне дослідження фізіології молочнокислих бактерій (Є. І. Квасников).
1950–1960 рр.	Поява нових концепцій у таксономії актиноміцетів (Н.П. Красильников).
1953 р.	Установлена модель подвійної спіралі молекули ДНК. Розшифровано механізм дії генетичного апарату (Дж. Уотсон, Ф. Крик).
1955–1965 рр.	Створена теорія безперервної ферментації (І. Малек, З. Фенце).
1953 р.	Узагальнено мікробіологічне розкладання целюлози (О.О. Імшенецький).
1955 р.	Виявлено, що клітини тварин здатні довгий час існувати в певній суміші низькомолекулярних сполук і комплексу білків сироватки. Початок практичного культивування тканинних культур (Х. Ігл).
1957 р.	Відкритий інтерферон – важливий фактор імунологічної системи тварин і людини (А. Айсакс, І. Ліндеман).

Таблиця 1.6

Ера керованого синтезу (з 1961 до 1975 р.)

Рік	Розробки
1961 р.	Установлена здатність мутантів бактерій до надсинтезу амінокислот. Початок мікробного синтезу амінокислот (С. Кіносіта, С. Накаяма, С. Кідата).
1961 р.	Створена концепція енергетичного сполучення – закладено основи мембранної біоенергетики (П. Мітчел).
1962 р.	Одержані дані про існування ферменту ДНК – рестриктази, яка використовується для розщеплення молекули ДНК в певних місцях (В. Абвер, Г. Сміт, Д. Натанс).
1964 р.	Мікробна очистка промислових стічних вод (Н. Путіліна).
1968 р.	Розшифрований генетичний код і його функції в синтезі білків (Р. Холлі, Х. Г. Корана, М. Ніренбергер).
1968 р.	Синтез гену в лабораторії (Х. Г. Корана).
1969 р.	Изольован ген з генетичного матеріалу клітини (Дж. Беквіт, Д. Шапіро, І. Ірон).

1970 р.	Відкриті інформосоми (Л. С. Спірін, Г. П. Георгієв, Ю. О. Овчинников).
1970–1980 рр.	Узагальнені фізико-біохімічні основи діяльності фотосинтезуючих бактерій (О. М. Кондратьєва).
1970–1980 рр.	Відкриті нові шляхи біосинтезу поліфосфатів мікроорганізмами (І. С. Кулаєв).
1972 р.	Розроблена теорія клонування ДНК (П. Берг).
1972 р.	Установлений хімічний склад антитіл – важливого фактора імунологічної системи тварин і людей (Дж. Едельман, Р. Портер).
1975 р.	Шляхом гібридизацій соматичних клітин одержані гібридами, що секретують моноклональні антитіла (Т. Келер, К. Мільштейн).

Таблиця 1.7

Ера нової біотехнології (після 1975 р.)

Рік	Розробки
1977 р.	За допомогою рекомбінантних бактерій одержаний перший гормон – соматостатин (К. Ітакурі, Х. Бойер).
1977–1979 рр.	Хімічний синтез гену соматостатину та інсуліну. Створення приладу, який синтезує олігонуклеотиди (фрагменти молекули ДНК) з заданою послідовністю нуклеотидів (К. Ітакурі).
1978–1981 рр.	Створена теорія хемоосмотичної циркуляції потоків в біологічних мембранах (В.П. Скулачов).
1979 р.	Визначена первинна структура бактеріородопсину – найпростішого генератору електрохімічного потенціалу клітини (Ю.О. Овчинников).
1980 р.	Створено анаеробний гранульований мул для очищення стічних вод (Г. Леттінга).
1980 р.	Запропоновано «біоконвеєр» для очищення води (П.І. Гвоздяк).
1981 р.	Мікрохірургічна трансплантація ембріонів тварин з метою найшвидшого розмноження високопродуктивних екземплярів (Вілландсон).
1985 р.	Сформульовані нові уявлення про механізм регуляції біохімічних реакцій у клітині за допомогою носіїв зовнішніх сигналів – цАМФ (Е. Сазерленд).
1985–1988 рр.	Розроблені основи безклітинного синтезу білка в протоці (С. Спірін).
1988 р.	Створено метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).
1990 р.	Розпочато роботу за проектом «Геном людини».
1997 р.	Клоновано ссавців з диференційованої соматичної клітини (вівця Доллі).

Одним із найважливіших напрямів біотехнології є обмеження масштабів забруднення нашої планети промисловими, сільськогосподарськими і побутовими відходами, токсичними компонентами автомобільних вихлопів. Так виникла нова наукова дисципліна – екологічна біотехнологія, що є новітнім підходом до охорони та збереження довкілля при спільному використанні досягнень біохімії, мікробіології, генетичної інженерії, екології й хімічних технологій.

Таким чином, специфічне застосування біотехнологічних методів для вирішення проблем довкілля, таких як перероблення відходів, очищення води, запобігання забрудненню, становить предмет екологічної біотехнології. На рисунку 1.2 подані основні напрями розвитку екологічної біотехнології, що становлять безпосередньо предмет її вивчення.



Рисунок 1.2 – Класифікація напрямів розвитку екологічної біотехнології

Коло завдань, що вирішуються екобіотехнологією, надзвичайно широке – від розроблення та вдосконалення методології комплексного хіміко-біологічного дослідження екосистем поблизу джерел техногенних дій до розроблення технологій і рекомендацій із рекультивації ґрунту, біологічного очищення води й повітря та біосинтезу препаратів, що компенсують шкідливий вплив зміни довкілля на людей і тварин.

Сучасні наукові дослідження націлені на створення безвідхідних технологій, одержання легкоруйнівних полімерів, зокрема біогенного походження, а також на пошук нових активних мікроорганізмів – руйнівників полімерів (поліетилену, поліпропілену, поліхлорвінілу).

Зусилля біотехнології спрямовані на боротьбу з пестицидними забрудненнями – наслідком надмірного й нераціонального застосування отрутохімікатів. Проводяться розроблення технологій із утилізації шкідливих викидів (хімікалії, нафта), що забруднюють воду та ґрунт, і сільськогосподарських відходів типу молочної сироватки для одержання харчових та кормових білкових продуктів, зокрема спеціальних препаратів, збагачених, наприклад, селеном дріжджів.

Підвищення цін на традиційні джерела енергії (природний газ, нафта, вугілля) і загроза їх вичерпання спонукали вчених звернутися до альтернативних шляхів одержання енергії. Роль біотехнології у створенні економічних поновлюваних енергетичних джерел (спиртів, біогенних вуглеводнів, водню) надзвичайно велика. Ці екологічно чисті види палива можна одержувати шляхом біоконверсії відходів промислового і сільськогосподарського виробництва. Перспективне продовження досліджень з удосконалення та впровадження процесів виробництва метану, етанолу, створення на основі мікроорганізмів (і ферментів) елементів, що ефективно виробляють електрику, а також з організації штучного фотосинтезу, зокрема біофотолізу води, з якого можна одержувати багаті на енергію водень та кисень.

Розвиток сільськогосподарської біотехнології на сучасному етапі спрямований на вирішення таких глобальних проблем, як підвищення родючості ґрунтів, врожайності та якості сільськогосподарської продукції; рекультивація сільськогосподарських угідь; поліпшення екологічної обстановки, що сприяє відновленню біоценозу ґрунтів; підвищення якості кормів та ін.

Екобіотехнологія також спрямована на створення раціональних і нешкідливих для людини й середовища процесів конверсії продуктів сільського господарства у більш цінні товарні форми. Для підвищення родючості ґрунту необхідно застосовувати органічні добрива, компости і знешкоджені шляхом метанового бродіння рідкі відходи тваринницьких ферм.

Таким чином, екологічні біотехнології поділяють на два напрями, що відповідають цілям застосування біотехнологічних процесів:

1) біотехнологічні методи, які використовують для захисту середовища від промислових і побутових відходів, деградації різних токсичних сполук, що вже потрапили в середовище, і т. п.;

2) упровадження біотехнологічних методів під час реалізації маловідхідних (безвідхідних) промислових процесів для досягнення повнішої утилізації сировини, зокрема вторинних сировинних ресурсів (рециклінг), інтенсифікація вирощування і використання поновлюваних природних ресурсів і т. п. До того ж поряд із виробництвом нових продуктів біотехнологічними методами можна одержувати також продукти, традиційні способи одержання яких менш екологічні.

Розроблення біотехнологічних виробництв на принципах екологічної безпеки на сьогодні стає все більш актуальним.

Другий напрям екологічної біотехнології ґрунтується не лише на показниках екологічної ефективності цієї технології, а й закладає ефективні економічні важелі впливу на ринку впровадження «зелених технологій», що дозволяє розширити сферу їх застосування і зробити цей процес економічно вигідним. Важливим напрямом екобіотехнології є також утилізація відходів біотехнологічних виробництв.

Проблема взаємовідношень між біотехнологією та екологією – це можливість негативного впливу на біосферу біотехнологічних процесів і досліджень у сфері біотехнології. Необхідно враховувати можливість негативної дії побічних продуктів біоконверсії або біосинтезу за недостатнього контролю процесу, вихід із-під контролю біотехнологічних об'єктів, одержаних методами новітньої біотехнології, або біологічне забруднення суміжних середовищ із утворенням мутагенних агентів і т. п.

Розроблення та реалізація біотехнологічних виробництв, як і інших видів технологічних процесів, також призводить до появи виробничих відходів. Тому необхідно не лише знижувати клас небезпеки тієї чи іншої забруднювальної речовини, знезаражувати відходи в процесі біоконверсії, а й шукати шляхи використання побічних продуктів перероблення (рис. 1.3).

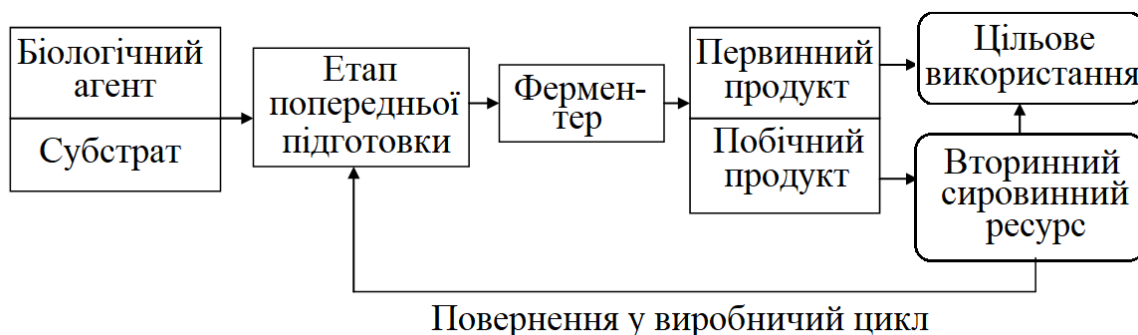


Рисунок 1.3 – Блок-схема «Принципи маловідхідності (безвідхідності) в розробленні екобіотехнологічних виробництв»



Таким чином, біотехнологія та екологія можуть взаємодіяти як через продукцію, так і через технологію.

Основною метою впровадження екобіотехнології є підвищення рівня екологізації народного господарства, що приводить до виникнення більш гармонічних відношень між суспільством і природою.

Привабливим аспектом екологічної біотехнології є низькі порівняно з іншими технологіями капітальні й експлуатаційні витрати, простота, надійність, універсальність реалізації біопроектів і відсутність технологічних джерел вторинного забруднення довкілля. Екобіотехнологія базується на природних принципах перетворення й переміщення речовини, енергії та інформації в екосистемах, що властиво живим організмам, біологічним системам і природним комплексам і відповідає законам екологічної рівноваги та стійкості екосистем. Таким чином, екобіотехнології є екологічно безпечними для навколишнього середовища та здоров'я населення за умов ретельного дотримання вимог з біобезпеки.

Хімічною основою реалізації біопроектів екологічних біотехнологій є біохімічні реакції, що здійснюють живі організми у середовищах, знешкоджуючи (біодеструкція) забруднюючі речовини або перетворюючи (біотрансформація) їх на менш агресивні для довкілля компоненти. Природна або генетично модифікована метаболічна й катаболічна активність асоціацій біоагентів та явище кометаболізму забезпечують реалізацію екологічних біотехнологій і безпечного входження в екосистему біотрансформованих речовин внаслідок процесів біодетоксикації, біодеградації та/або біоконверсії.

Перетворення хімічних сполук за участю біоагентів відбувається у різних напрямках і призводить до мінералізації, біосинтезу, полімеризації сполук, накопичення їх у компонентах довкілля тощо. Біотрансформація поллютантів відбувається завдяки наявності в екосистемах мікробіоценозів певного складу, розвиток і розмноження яких індукує підвищена концентрація забруднювачів (у першу чергу, біогенів – сполук Карбону, Нітрогену, Фосфору тощо), при зниженні якої чисельність і структура мікробіоценозів повертається до вихідного природного стану. Біотрансформація речовин реалізується шляхом реакцій окиснення, відновлення, дезамінування, декарбоксілювання, дегалогенування, метилювання, гідроксилювання, гідратації, гідролізу тощо.

Біоагентами процесу біотрансформації сполук різного походження є:

- природні угруповання мікроорганізмів (мікробіоценози);
- чисті культури мікроорганізмів;
- селекціоновані культури мікроорганізмів (штами);
- генетично модифіковані мікроорганізми;
- іммобілізовані й інтактні ферменти;
- біологічні сурфактанти (поверхнево-активні речовини).

Найважливіша роль у екологічній біотехнології належить біоагентам, які утворюють у різноманітних мережах живлення останній трофічний рівень, – редуцентам або деструкторам (гетеротрофним мікроорганізмам) і вторинним

консументам. Продуценти (здебільшого фототрофні організми) відіграють незначну роль у біотрансформації поллютантів. Змішані мікробні асоціації (консорціуми) забезпечують більш повний розклад (біодеградацію) сполук, зокрема ксенобіотиків. Перспективним є застосування іммобілізованих клітин мікроорганізмів та іммобілізованих ферментів. Взагалі, головну роль у біотрансформації ксенобіотиків відіграють все ж таки автотрофні мікроорганізми, але не фото-, а хемотрофні (табл. 1.8).

Таблиця 1.8

Використання мікроорганізмів для біотрансформації поллютантів

Поллютант	Мікроорганізм
Інсектициди, гербіциди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas stutzeri</i>
ДДТ	<i>Fusarium oxysporum</i>
Нафта	<i>Nocardia vacceinii</i> <i>Rhodococcus rhodochrous</i> <i>Methanobacterium formicicum</i> <i>Methanobacterium hungati</i> представники родів <i>Mycobacterium</i> і <i>Arthrobacter</i>
Воски, парафіни, лігроїн	<i>Pseudomonasputida</i>
Метан	<i>Methylococcus</i> , <i>Methylomonas</i> , <i>Methylobacter</i> , <i>Methylocystis</i> , <i>Methylosinus</i>
ПАР	представники родів <i>Pseudomonas</i> , <i>Xantomonas</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Alcaligenes</i>
Сполуки металів (Hg, Mo, Se, Ag, Fe)	представники родів <i>Leptospirillum</i> , <i>Thiobacillus</i>
Сульфіди	<i>Thiobacillus denitrificans</i>
Нікотин	<i>Arthrobacter oxidans</i> <i>Pseudomonas convexa</i>
Сечовина	<i>Providenci astuartii</i>

Екологічні біотехнології (ЕБТ) застосовують для забезпечення екологічної безпеки реалізації технологічних процесів, переробки й біоконверсії відходів виробництв, охорони гідро-, літо- і атмосфери (табл. 1.9). ЕБТ сприяють захисту від антропогенного впливу й відновленню природних екосистем, детоксикації й утилізації відходів з отриманням екологічно чистих продуктів, збереженню екологічної рівноваги в біосфері, забезпечуючи таким чином якість екосистемних послуг і зберігаючи біорізноманітність.

Таблиця 1.9

## Відповідність екологічних біотехнологій геологічному середовищу

Середовище	Джерело забруднення	Екологічна біотехнологія
Водне	Стічні води (техногенні, аерогенні та побутові стоки)	Біоочищення стічних вод у спорудах у природних та штучних умовах
	Аварійні скиди (вилиті нафтопродуктів, пестицидів, рідких мінеральних добрив)	Біоремедіація локальних ділянок водних і прибережних екосистем
	Євтрофікація водойм	Інтенсифікація процесів самоочищення водойм. Денітрифікація в системі біоочищення скидів. Зариблення водойм фітофагами
Ґрунтове	Стічні води (техногенні, аерогенні та побутові стоки)	Біоочищення стічних вод в умовах штучних гідроекосистем очисних споруд
	Аварійні виливи нафтопродуктів, кислот, лугів, розчинників, висип пестицидів, складування відходів	Біоремедіація локальних едафотопів
	Органічні техногенні, аерогенні та побутові відходи	Компостування, переробка, біоконверсія
	Відвали гірничо-збагачувальних виробництв	Біовилуговування. Біоремедіація
Повітряне	Техногенні й аерогенні викиди	Біоочищення забрудненого повітря

ЕБТ пропонує різноманітний асортимент технологічних рішень щодо ліквідації локальних забруднень водойм, ґрунтів, попередження забруднення атмосферного повітря та повітря виробничих зон, очищення стічних вод, переробки й утилізації твердих побутових, промислових і агрогенних відходів, впровадження екологічно безпечних технологій відновлення екосистем, реалізації потенціалу самоочищення середовищ від поллютантів, підтримання екологічної рівноваги в екосистемах. Головним за пріоритетом завданням для фахівців з екологічної біотехнології є впровадження наступних технологічних рішень:

– широке впровадження природоподібних технологій, заснованих на механізмах інтенсифікації процесів самоочищення води (біологічних ставків,

біоінженерних споруд, зокрема біоплато) за використанням штучно створених різноманітних гідроконсорцій (бактерій, ооміцетів, безхребетних, водоростей, макрофітів тощо);

– запровадження на спорудах біоочищення стічних вод стадії денітрифікації як обов'язкового етапу доочищення стоків задля зниження первинної продукції гідробіонтів і зменшення рівня евтрофування природних водойм;

– пошук нових і генетична модифікація існуючих C4-рослин для широкого використання як біоагентів біоремедіації на полігонах твердих побутових відходів, забруднених нафтою, нафтопродуктами, важкими металами й іншими ксенобіотиками едафотопів тощо;

– застосування під час метаногенезу у метантенках комбінацій вихідних субстратів різного складу для переробки широкого спектру органічних відходів та отримання оптимального за хімічним складом і теплотворною здатністю біогазу;

– удосконалення існуючого обладнання з біоочищення газоповітряних викидів із точки зору ресурсозбереження за умов виключення циркуляції води у пристроях, підвищення метаболічної активності біоагенту й ефективної його іммобілізації на інертному носії;

– максимальна механізація й автоматизація технологічного процесу компостування органічних відходів, широке запровадження компостування багатотоннажних твердих побутових відходів за умов їх селективного збирання задля запобігання забруднення кінцевого продукту біотехнології – добрива – сполуками важких металів і токсичними поллютантами;

– розробка та запровадження біопрепаратів досконалого складу для біоремедіації середовищ від хімічно стійких поллютантів, отримання генетично модифікованих видів мікроорганізмів з високою біокаталітичною активністю відносно стійких ксенобіотиків.

Подальший розвиток, удосконалення та реалізація екологічних біотехнологій набувають особливої актуальності у сучасних умовах зміни клімату, як наслідок – раптових забруднень складових довкілля техногенного й антропогенного походження. За статистикою за останні 20 років значно почастишали випадки техногенних катастроф, останніми роками особливо небезпечними стали надзвичайні ситуації природного характеру. Тому запровадження екологічно безпечних біотехнологій із збереження екосистем, екологізації технологічних процесів урбоекосистем, відновлення порушених біогео і біогідроценозів із дотриманням заходів біобезпеки є принципово пріоритетним напрямком розвитку сучасної біотехнологічної галузі.

### **? Контрольні питання:**

1. Назвіть біоагенти процесів біотрансформації поллютантів.
2. Які екологічні біотехнології застосовують для охорони водного середовища?

3. Назвіть пріоритетні напрямки біотехнічних досліджень з огляду сучасних екологічних викликів і перспектив розвитку екологічних біотехнологій.
4. Яку назву має третя ера історії біотехнології і до якого року вона тривала?
  - а) ера керованого синтезу, до 1960 р.;
  - б) ера антибіотиків, до 1965 р.;
  - в) ера антибіотиків, до 1960 р.;
  - г) післяпастерівська ера, до 1975 р.
5. Термін «антибіотик» введено у:
  - а) 1842 р.;
  - б) 1943 р.;
  - в) 1942 р.;
  - г) 1962 р.
6. Скільки виділяють етапів (ер) в історії біотехнології?
  - а) 3;
  - б) 4;
  - в) 5;
  - г) 6.
7. Проти чого і в якому році була проведена перша успішна вакцинація людини?
  - а) проти холери, 1882 р.;
  - б) проти віспи, 1795 р.;
  - в) проти туберкульозу, 1905 р.;
  - г) сибірської виразки, 1881 р.
8. Мікробне очищення промислових стічних вод вперше здійснено у:
  - а) 1978 р.;
  - б) 1927 р.;
  - в) 1953 р.;
  - г) 1964 р.

## Заняття № 2

### **Тема: ВИКОРИСТАННЯ БРОДІННЯ І ІНШИХ ТИПІВ МЕТАБОЛІЗМУ**

**Мета:** сформувати поняття про типи бродіння та його застосування в промисловості.

#### План

1. Поняття про бродіння. Типи ферментів.
2. Спиртове бродіння. Продуценти.
3. Виробництво етанолу. Шляхи використання етанолу.
4. Двопоточний спосіб зброджування меляси.
5. Отримання етанолу в замкнутому безвідходному циклі Ямомото.
6. Виробництво вина та пива.

**Основні терміни і поняття:** спиртове бродіння, ефект Пастера, меляса, етанол.

**Бродіння** – це еволюційно найбільш стародавній і примітивний спосіб отримання енергії. Основні типи бродінь: спиртове, молочнокисле, маслянокисле (відкриті Пастером до 1861 року), оцтовокисле, лимоннокисле, ацето-бутилове та ін. Процес бродіння протікає в анаеробних умовах без участі  $O_2$  за рахунок окиснювально-відновних перетворень органічних сполук субстрату і супроводжується виділенням енергії. Бродіння 1 молекули глюкози = 2АТФ  $\rightarrow$  молочна кислота 196,6кДж/моль. Окислення 1 молекули глюкози = 38АТФ  $\rightarrow$   $CO_2 + H_2O$  2870,2 кДж/моль.

Вирішальну роль у всіх реакціях грають ферменти. Склад ферментів визначає геном клітини і він є відносно постійним. За місцем знаходження розрізняють:

- екзоферменти – ферменти, що виділяються в навколишнє середовище (наприклад, гідролази – руйнують крупні молекули субстрату і грають виключно важливу роль в живленні прокаріотів);
- ендоферменти – ферменти всередині клітини (гліколітичні ферменти – обслуговують гліколіз).

За часом утворення всі ферменти можна розділити на дві групи:

- конститутивні – їх синтез йде з постійною швидкістю незалежно від речовини субстрату; в клітині вони знаходяться в більш менш постійній концентрації (наприклад, гліколітичні ферменти);
- індукцйбельні – швидкість їх синтезу в клітині різко зростає у відповідь на появу в середовищі субстрату. До індукцйбельних ферментів відносяться більшість гідролаз.

Алостеричні ферменти – чуйно (тонко) реагують на концентрацію кінцевих продуктів метаболізму.

Існує три шляхи перетворення вуглеводів до піровиноградної кислоти. Найпоширеніший серед бактерій – гліколіз або шлях Ембдена-Мейєргофа-Парнаса. Другий (характерний тільки для деяких бактерій) – шлях Ентнера-Дудорова. Третій – пентозофосфатний шлях (характерний для багатьох бактерій).

**Спиртове бродіння** – бродіння, при якому мікроорганізми перетворюють вуглеводи з утворенням етилового спирту, як основного продукту бродіння.

Збудники: дріжджі – *Saccharomyces cerevisiae*, *S. globosus*, *S. vini*; деякі гриби родів *Mucor*, *Fusarium* і *Oidium*; бактерії *Sarcina ventriculi* та деякі представники роду *Clostridium*. Середовище існування: ґрунт, поверхня рослин та ін. Особливості культивування: до нітрогену не вибагливі, краще засвоюють його з амонійних солей. Амінокислоти синтезують самі. Необхідні сполуки фосфору, калій та натрій. Мікроелементи Cu, Co і Fe підвищують активність ферментів. Оптимальний рН – слабо кислий. Збільшення кислотності веде до отримання більшої кількості гліцерину (вторинний продукт). Зниження

кислотності призводить до синтезу органічних кислот. Оптимальний окисно-відновний потенціал – низький, температура 28–30 °С, концентрація цукру в середовищі 10–18 %.

Джерела вуглеводів для спиртового бродіння: цукри, гліцерин, вуглеводні. Збродження цукру до етилового спирту відбувається по шляху Ембдена-Мейєргофа-Парнаса.

**Ефект Пастера:** при проникненні в середовище кисню, дріжджі, які виконували процес бродіння, переходять на аеробне дихання, коефіцієнт використання субстрату збільшується і ріст біомаси зростає. Це використовують при вирощуванні пекарських дріжджів (середовище піддають аерації). Навпаки, при отриманні спирту процес ведеться в анаеробних умовах.

За витратами сировини спиртове бродіння найбільше біотехнологічне виробництво в світі. Однак за вартістю продукту займає 3 місце серед крупнотонажних. Як рідке паливо, етанол не може конкурувати з бензином. Наприклад, у США одержаний із зерна етанол у 2 – 3 рази дорожчий за бензин. Існують національні програми із заміни частини бензину (20 %) на етанол, що дозволить зменшити імпорт нафти. Бразилія ще в 1912 році планувала одержати із цукрової тростини 3,8 млрд. л етанолу, щоб скоротити імпорт нафти на 4 млрд. доларів.

Із 3,8 кг цукру можна одержати 1,7 кг етанолу, а із нього 1 кг етилену (рис. 2.1).

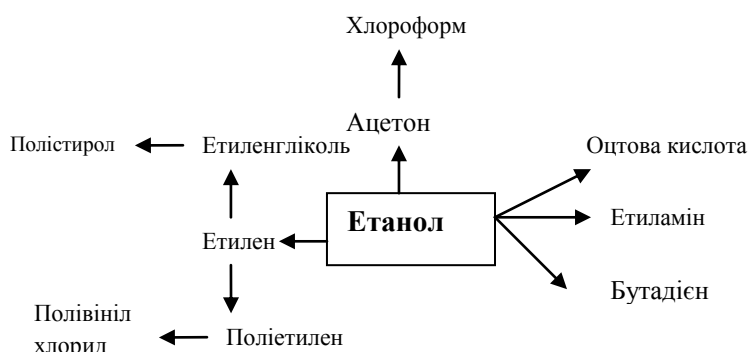


Рисунок 2.1 – Шляхи використання етанолу

Одержання етанолу – одна із найстаріших біотехнологій. Добре вивчена біохімія спиртового бродіння. Енергія субстрату в процесі бродіння розподіляється так: 90 % переходять в етанол і по 5 % у біомасу та теплоту (табл. 2.1). У значенні продуценту в спиртовому виробництві використовують тільки дріжджі, але етанол можуть продукувати більшість бактерій.

Найпродуктивніші види мікроорганізмів:

1. *Saccharomyces cerevisia* – оптимальний рН 3–4, температура 30 °С. Вихід етанолу (у відсотках від максимального) – 100 %, максимальна концентрація етанолу в середовищі – 130 г/л. У значенні субстрату використовують полісахариди, але не використовують пентози.

2. *Saccharomyces rosei* – оптимальна рН 4,6, оптимальний температура 35°C. Вихід етанолу (у відсотках від максимального) – 88 %, максимальна концентрація етанолу в середовищі – 42,5 г/л. У значенні субстрату використовую полісахариди, можуть використовувати топінамбур.

3. *Kluveromyces marxianus* – оптимальний рН 4,4, оптимальна температура 35 °С. Вихід етанолу 88 %, максимальна концентрація етанолу в середовищі – 44 г/л. Субстрати ті ж самі.

4. *Zyomonas mobilis* – оптимальний рН 5,5, оптимальна температура 30°C. Вихід етанолу 95 %, максимальна концентрація етанолу в середовищі – 130 г/л. Це аеротолерантні бактерії, вони інтенсивно вивчаються, але використовуються поки лише тільки в Канаді.

5. *Clostridium thermocellum* – оптимальний рН 7,0, оптимальна температура 32°C. Вихід 50 %, максимальна концентрація етанолу в середовищі – 1,5 г/л.

Таблиця 2.1

Продуктивність сільськогосподарської сировини

Сировина	Продуктивність, л/т	Продуктивність, л/га
Цукрова тростина	76	4000
Кукурудза	388	12000
Картопля	110	6000
Меляса	190	9000

Існує багато технологічних варіантів реалізації процесу спиртового бродіння. Розглянемо схему двопоточного способу зброджування меляси (рис. 2.2). Ця схема, передбачає приготування окремих середовищ для одержання дріжджів (сухої речовини в них 8–12 %) і для зброджування (32–36 % сухої речовини). У дріжджогенераторах застосовують слабку аерацію. Об'єм повітря, що подається – 3–4 м<sup>3</sup> на годину. Температура в дріжджогенераторах підтримується на рівні 28–30 °С, а рН 4,2–4,5. Концентрація етанолу в дріжджогенераторах досягає 2,8–3,5 %, дріжджів 2,5–6,5 % сухої речовини.

Вирощені дріжджі із дріжджогенератору направляють у головний бродильний апарат, куди одночасно надходить середовище з концентрацією сухої речовини 32–36 %. Після заповнення головного апарату, культуральна рідина послідовно проходить ряд бродильних апаратів і з останнього потрапляє на перегонку. Температура бродіння 29–31°C. Концентрація сухої речовини в першому бродильному апараті 7,5–8,5%, у другому – 8–9%, у третьому – 9–9,5 %, і в останньому 5–6,5 %. Система працює без оновлення дріжджів 7–10 діб. Перед перегонкою із бражки виділяють хлібопекарські кормові дріжджі.



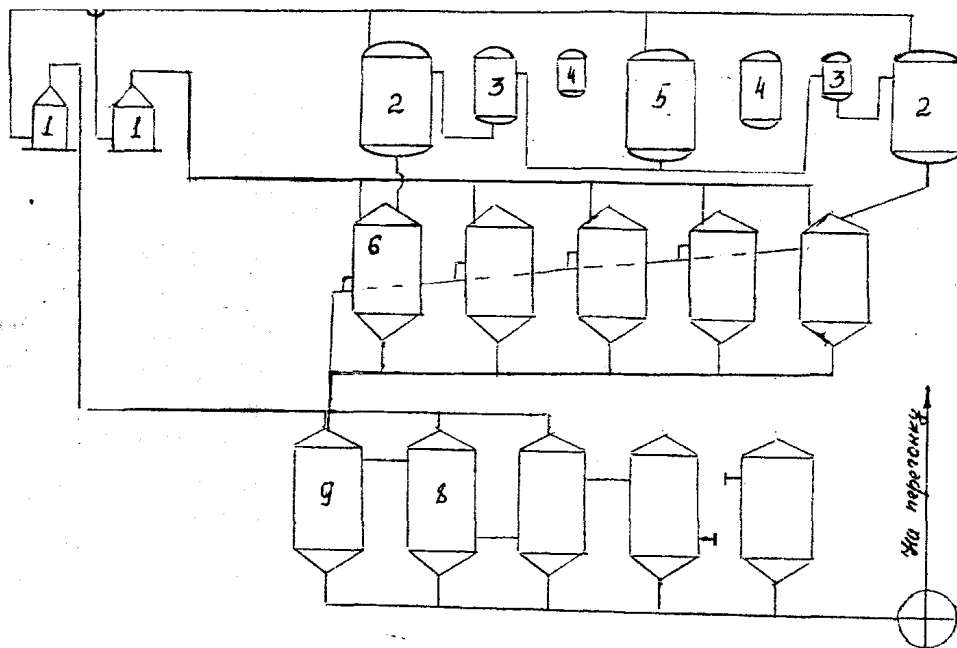


Рисунок 2.2 – Апаратурно-технологічна схема одержання етанолу із меляси (кормова патока – побічний продукт бурякоцукрового виробництва)

1 – розсиропники; 2–4 – апарати чистої культури; 5 – стерилізатор; 6 – дріжджогенератори; 7 – насос; 8 – бродильний апарат; 9 – головний бродильний апарат.

Великий інтерес являють собою аеротолерантні бактерії *Zymomonas mobilis* як продуценти етанолу. Вони, на відміну від дріжджів, характеризуються низькою чутливістю до етанолу. Крім того, гранична швидкість споживання глюкози і утворення етанолу в 2–3 рази вища. Ця бактерія здатна утилізувати глюкозу, сахарозу. Недолік – повільне зростання біомаси, що знижує продуктивність системи. Великі успіхи у культивуванні *Z. mobilis* були досягнуті при одержанні етанолу в Канаді. В результаті селекції було одержано штами, що дають 200 г/л етанолу. При одержанні етанолу хімічним шляхом із етилену продуктивність складає 80 г/л за годину.

**Отримання етанолу в замкнутому безвідходному циклі Яомото.** Ідея японця Яомото – замкнута безвідходна система одержання етанолу із картоплі (рис. 2.3). Він довів, що одержаний із мікроміцетів роду *Rhizopus* ферментний препарат володіє амілазною і пектиноюю активністю та добре переводить крохмаль розтертої картопляної маси в етанол. Процес відбувається при рН 4,2 і температурі 25 °С. Не вимагається розварювати картоплю і оцукрювати масу.

Схема Яомото є прикладом замкнутої безвідходної технології, в якій лише кінцевий продукт випадає з замкнутого циклу (етанол). При створенні нових біотехнологій необхідно наслідувати цей приклад.

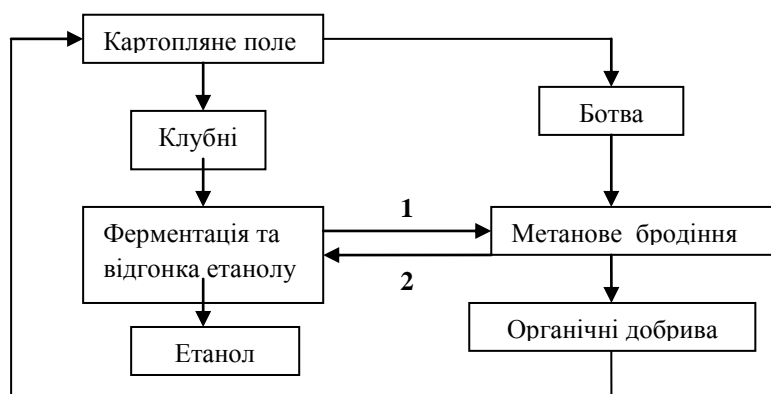


Рисунок 2.3 – Схема отримання етанолу за Ямомото

1 – осад після ферментації; 2 – енергоносії (біогаз) для стабілізації температури ферментації.

### Виробництво вина.

Мікроорганізми зброджують глюкозу та фруктозу виноградного та плодово-ягідного соку з утворенням етилового спирту та вуглекислого газу. У виноградному соку міститься 10–25 % цукру. У виноградному суслі повністю змінюється мікрофлора, в кінці залишаються тільки дріжджі. Останнім часом використовують лише чисті культури дріжджів.

Спиртове бродіння може бути завершеним та незавершеним. В залежності від цього вина діляться на два види:

- вина з завершеним бродінням (сухі), коли цукор зброджений «насухо» і в середовищі його не більше 0,1 %;
- вина з перерваним спиртовим бродінням. Це досягається додаванням бісульфіту натрію або спирту.

**Сушло** – водний розчин екстрактивних речовин фруктової, ягідної та іншої сировини, призначеної для зброджування. З незабарвленого сушла виготовляють біле вино. Якщо сушло бродить в присутності шкірки (забарвлене), то утворюється червоне вино. Молоде вино освітлюють і дають йому дозріти (місяці, роки).

Гристі вина (шампанське) – піддають повторному бродінню, додаючи цукор (під тиском) в закритий посуд, де відбувається насичення розчину вуглекислим газом.

Херес – отримують шляхом додавання до вина 15 % спирту та витримують його на повітрі. На поверхні розвиваються плівчасті дріжджі, які надають вину специфічний смак.

### Виробництво пива.

Пиво готують із злаків, в яких не має цукрів (ячмінь, рис, кукурудза). В них є крохмаль і його гідролізують до мальтози та глюкози. Оцукрення здійснюють через пророщування – амілази розщеплюють крохмаль.

Зерна, які проросли, вже не мають цукру. Їх розмелюють та змішують з водою – це гідролізує крохмаль. Екстракт видаляють, кип'ятять з хмелем, що забезпечує специфічний запах та зберігання, а стійкість дають ефірні масла із

хмелю. Раси пивних дріжджів: верхові (міцне пиво) – 20 °С, низові (слабке пиво) – 15 °С.

**? Контрольні питання:**

1. Дайте визначення поняття «спиртове бродіння». Назвіть його збудники.
2. Чому термотолерантні дріжджі вважаються більш ефективними в порівнянні з дріжджами інших рас (раси XII, голландськими дріжджами тощо) для виробництва спирту?
3. Охарактеризуйте дріжджі, що використовують в промисловості.
4. Які фактори впливають на активність дріжджів?
5. Як одержати етанол?
6. Які ви знаєте шляхи використання етанолу?
7. Намалюйте апаратурно-технологічну схему виробництва етанолу з меляси.
8. Намалюйте схему безвідходного виробництва етанолу, запропоновану японцем Ямомото.
9. Ферменти, швидкість синтезу яких в клітині різко зростає у відповідь на появу в середовищі субстрату, називаються:
  - а) алостеричні;
  - б) конститутивні;
  - в) індукцибельні;
  - г) ендоферменти;
  - д) екзоферменти.
10. Біле вино отримують з:
  - а) сусла в присутності шкірки;
  - б) сусла без шкірки;
  - в) сусла з додаванням хмелю;
  - г) сусла при повторному бродінні.
11. Найбільш продуктивною сировиною для отримання етанолу є:
  - а) картопля;
  - б) цукрова тростина;
  - в) кукурудза;
  - г) меляса.
12. Із 3,8 кг цукру можна отримати ...
  - а) 1 кг етанолу;
  - б) 3 кг етанолу;
  - в) 0,5 кг етанолу;
  - г) 1,7 кг етанолу.
13. В чому сутність ефекту Пастера?
  - а) при проникненні в середовище кисню, дріжджі, які виконували процес бродіння, переходять на аеробне дихання, коефіцієнт використання субстрату збільшується;

- б) при проникненні в середовище кисню, дріжджі, які виконували процес бродіння, переходять на анаеробне дихання, коефіцієнт використання субстрату зменшується;
- в) при проникненні в середовище кисню, дріжджі, які виконували процес бродіння, переходять на аеробне дихання, коефіцієнт використання субстрату зменшується;
- г) при проникненні в середовище кисню, дріжджі, які виконували процес бродіння, переходять на анаеробне дихання, коефіцієнт використання субстрату збільшується.
14. Який мікроорганізм є найпродуктивнішим для виробництва етанолу?
- а) *Zymomonas mobilis*;  
б) *Saccharomyces cerevisia*;  
в) *Kluuyveromyces marxianus*;  
г) *Clostridium thermocellum*.
15. Особливість культури *Zymomonas mobilis* – це ...
- а) висока чутливість до етанолу;  
б) здатність зростати при рН 1-2;  
в) низька чутливість до етанолу;  
г) здатність зростати при 0-5 °С.
16. Безвідходний замкнутий цикл Ямомото дозволяє отримувати етанол з ...
- а) картоплі;  
б) кукурудзи;  
в) буряку;  
г) цукрової тростини.
17. Специфічний запах пива забезпечує ...
- а) хміль;  
б) злаки;  
в) півні дріжджі;  
г) етанол.
18. Із 3,8 кг цукру можна одержати ...
- а) 2 кг етилену;  
б) 1 кг етилену;  
в) 3 кг етилену;  
г) 0,5 кг етилену.

### Заняття № 3

#### **Тема: ВИРОБНИЦТВО БІОГАЗУ. БІОХІМІЯ І МІКРОБІОЛОГІЯ ПРОЦЕСУ МЕТАНОГЕНЕЗУ**

**Мета:** засвоїти поняття про основи метаногенезу та шляхи утилізації гною й іншої біомаси.

План

1. Поняття про метаногенез. Стадії метанового бродіння.
2. Метаногени.
3. Токсичність і метаногенез.
4. Виробництво біогазу.
5. Традиційні шляхи утилізації гною.
6. Виробництво біогазу за допомогою біогазових установок.
7. Використання біотехнологічного виробництва біомаси гідробіонтів.

**Основні терміни і поняття:** біогаз, метаногенез, ацидогенез, гідролітичні бактерії, негідролітичні бактерії.

Метанове бродіння (зброджування) – безкиснева біологічна конверсія органічної речовини в біогаз, який складається, в основному, із метану і вуглекислоти. Анаеробне бродіння – багатостадійний процес, який здійснюється декількома функціональними групами бактерій, що тісно взаємодіють між собою.

Завдяки створюваним продуктам перша стадія бродіння отримала назву **кислотогенної (або ацидогенез)**. Вона розділяється ще на три фази: 1) гідролітична; 2) кислотна; 3) ацидофільна.

На першій стадії гетерогенна група анаеробних бактерій, так звані первинні анаероби, піддають ферментативному розщепленню складні водонерозчинні органічні полімери – полісахариди, білки та ліпіди. При цьому разом з бактеріями, які здійснюють гідроліз полімерів, функціонують мікроорганізми («мікрофлора розсіювання»), що розкладають моноцукри, органічні кислоти і спирти, які утворюються при гідролізі. Результатом діяльності обох груп мікроорганізмів є утворення водню, CO<sub>2</sub>, низькомолекулярних (летючих) жирних кислот (ЛЖК) і спиртів.

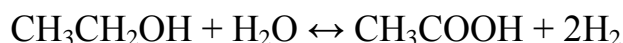
Гідролітичні бактерії знаходяться в тісному контакті з субстратом, який гідролізується. Мікрофлора розсіювання, навпаки, розвивається в рідкому середовищі. У процесах першої стадії беруть участь облігатні (*Clostridium*, *Bacteroides*, *Butyrivibro* та ін.) та факультативні (*Escherichia coli* і *Bacillus sp.*) анаеробні бактерії.

Друга стадія називається **метанова**. Під час цієї стадії проходить процес метаногенезу. Він також здійснюється декількома групами бактерій. Основну роль відіграють метанові (метаноутворюючі) бактерії (метаногени).

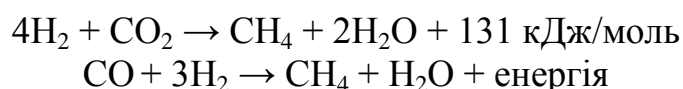
Метанові бактерії – це особлива група бактерій – архебактерії. Вони відрізняються дуже низькою швидкістю росту, надзвичайно чутливі до умов навколишнього середовища і вимагають перш за все відсутності в середовищі розчиненого кисню та інших окиснювачів. Метаногени – це група мікроорганізмів, які сильно відрізняються від усіх інших своїми властивостями, фізіологією і біохімією. Процес їх життєдіяльності оснований на реакціях, що протікають за участю унікальних ферментів (так звані фактори F<sub>20</sub>, F<sub>30</sub>, кофермент M).

Характерною особливістю цих бактерій є дуже вузький спектр використуваних субстратів: водень, вуглекислота, мурашина й оцтова кислоти, метанол, моно-, ди- і триметиламіни. Ці субстрати частково наявні і після стадії ацидогенезу, однак, переважно, в їх утворенні бере участь так звана синтрофна мікрофлора – ацетогенні і гомоацетогенні бактерії.

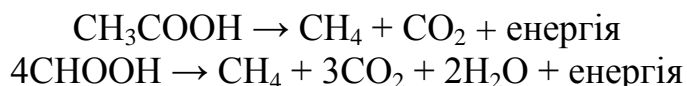
Синтрофні мікроорганізми представлені як облигатними, так і факультативними анаеробами (*Synthrophobacter*, *Syntrophomonas*, *Desulfovibrio*), їх мікробіологія вивчена слабо. Процес розкладання цими бактеріями органічних кислот і спиртів на водень і оцтову кислоту може бути здійснений термодинамічно тільки при дуже низьких концентраціях водню.



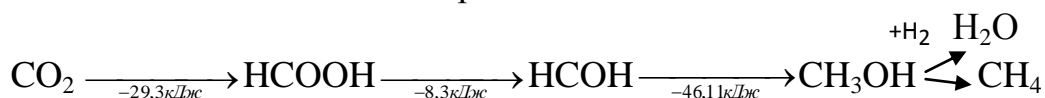
У метаноутворюючому оточенні функцію вилучення водню виконують метаногени, які використовують водень (роди *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanosarcina*). При цьому концентрація водню стає нижче термодинамічного порогу для синтрофних бактерій:



Бактерії, які використовують водень, складають більшість із відомих науці метанових бактерій. За водневим шляхом утворюється близько 28 % метану. Основна кількість метану (72 %) утворюється з оцтової та мурашиної кислот:



Метанобактерії, які використовують ацетат, представлені двома родами: *Methanosarcina* і *Methanothrix*. Процес йде за схемою Barker:



Метаногенне оточення – це складна екологічна система. Перевага того чи іншого роду (виду) у складі функціональних груп метаногенного оточення залежить від складу і концентрації субстрату, умов проведення процесу. Таким чином, процес анаеробного метанового бродіння – результат складних взаємовідносин між функціональними групами і видами мікроорганізмів і може бути зрозумілим тільки при розгляді всього оточення в цілому, а не тільки властивостей окремих видів.

В анаеробних біореакторах (рис. 3.1) метанові бактерії можуть утворювати один з одним та іншими мікроорганізмами складні просторові структури: флокули (пластівці) або біоплівку на поверхні матеріалу твердої фази. При

створенні подібних структур розміром до декількох міліметрів метанові бактерії значно втрачають здатність вільно пересуватися в об'ємі реактора, зберігаючи свою метаболічну активність. Це дозволяє при малому часі перебування стічної води в біореакторі підтримувати в ньому дуже високу концентрацію біомаси (5–10 г/л). Явище утворення бактеріальних макроструктур покладено в основу роботи анаеробних біореакторів другого покоління.

Створення локальних висококонцентрованих бактеріальних утворень неминуче змінює властивості бактерій у порівнянні з дисперсними суспендованими культурами. Так, біоплівка (товщина її може досягати 1–4 мм) здатна в певних межах підтримувати у відповідній мікрзоні оптимальні умови середовища (рН, окиснювально-відновлювальний потенціал). Біореактори з біоплівкою стійкі до дії токсичних речовин. Метаногенна плівка має досить крихку структуру. Це забезпечує вільне проникнення субстрату і відтік метаболітів при товщині біоплівки приблизно до 1 мм. При більшій її товщині виникає проблема опору дифузії.

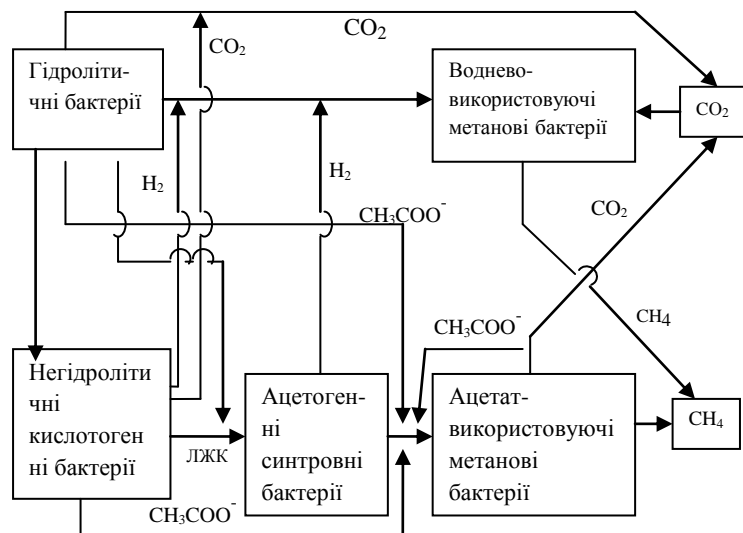


Рисунок 3.1 – Схема конверсії складних органічних речовин анаеробними метаногенними асоціаціями

Деякі токсичні речовини наявні в субстратах у розчиненому стані. Інгібіторами метаногенезу є і власне проміжні продукти – ЛЖК і  $H_2$ . Вплив токсичних речовин може бути бактеріостатичним і бактеріцидним. До гостротоксичних для метанового бродіння відносяться деякі синтетичні органічні речовини (переважно хлорорганічні), неорганічні сполуки (ціаніди), важкі метали та окиснювачі.

Один із токсикантів, який найбільше зустрічається в стічних водах – амонійний азот, що утворюється при розкладанні білків. Ступінь токсичності залежить від рН середовища: при  $pH < 7,2$  переважає менш токсична форма – іон

амонію  $\text{NH}_4^+$ , при лужному середовищі – більш токсична форма – вільний амоніак  $\text{NH}_3\uparrow$ .

Другий токсикант – сульфат-іон  $\text{SO}_4^{2-}$ . В анаеробних умовах  $\text{SO}_4^{2-}$  трансформується в більш токсичні сульфіди. Концентрація  $\text{SO}_4^{2-}$  і  $\text{H}_2\text{S}$  є функцією рН і вмісту важких металів (перш за все заліза). При цьому утворюються нетоксичні сульфіди, які нерозчинні у воді. Токсичність – поняття відносне. Необхідні біогенні речовини і мікроелементи ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  та ін.) стають інгібіторами при високих концентраціях (табл. 3.1, рис. 3.2).

Таблиця 3.1

Речовини-інгібітори та їх концентрації	
Речовини-інгібітори	Концентрація
Важкі метали	
$\text{Cu}^{2+} / \text{Cu}$	0,5 * / 30-70 мг/л**
$\text{Cr}^{6+} / \text{Cr}$	3,0 * / 200-260 мг/л
$\text{Ni}^{2+} / \text{Ni}$	2,0 / 30 мг/л
Органічні сполуки	
ЛЖК	1000 - 2000 мг/л
Формальдегід	50 – 200 мг/л
Хлороформ	0,5 мг/л
Метиленхлорид	2 мг/л

Примітка: \* в чисельнику – це концентрація речовини в розчині; \*\* в знаменнику – це загальна концентрація.

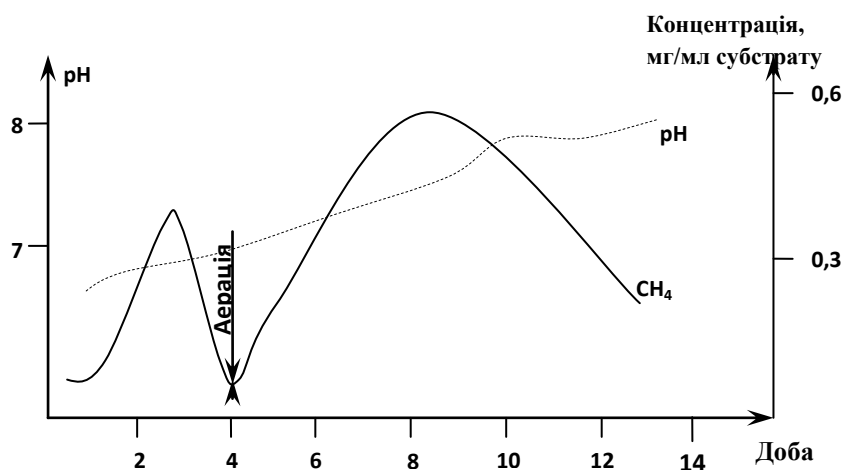


Рисунок 3.2 – Вплив кисню на метаногенез в умовах короткочасної аерації

Токсичність залежить від ступеня адаптації мікроорганізму до даного токсиканта. Якщо концентрація токсикантів повільно підвищується, то бактерії можуть успішно мобілізувати свої метаболічні системи. Доведено, що більшість мікроорганізмів успішно адаптуються в анаеробних умовах до високих концентрацій ЛЖК (6-8 г/л і більше), амонійного азоту (5 г/л і більше).



Після адаптації мікроорганізми здатні також розкласти велику кількість токсично органічних сполук: феноли, хлорфеноли, формальдегід та ін. (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Значення порогу інгібування метанового зброджування різноманітними речовинами

Речовина	Інгібуюча концентрація, мг/л
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,01
Нітрати	50
Амонійний азот	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1500 – 3000
Вільний NH <sub>3</sub>	100 – 200
Сполуки сірки	
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1000
S <sup>2-</sup>	100 – 200
Іони лужних і лужно-земельних металів	
Ca <sup>2+</sup>	2500 – 4500
Na <sup>+</sup>	3500
K <sup>+</sup>	2500 - 4500

### Виробництво біогазу

Сприятливим для життєдіяльності асоціації метаноутворюючих мікроорганізмів вважається середовище, в якому концентрація сухої речовини на рівні 10–12 %. У цьому випадку в'язкість субстрату дозволяє вільно пересуватися рідині між зваженими твердими частинками гнойової біомаси (субстрат) і мікробними клітинами, що знаходяться в ній. При концентрації сухої речовини більше 12 % у зв'язку з підвищенням в'язкості субстрату і погіршенням умов протікання ферментативних реакцій через недостатньо активне перемішування відбувається зниження виходу біогазу.

Найбільш сприятливим для розмноження метанових бактерій є середовище, в якому співвідношення С:N дорівнює 3:1. Для підтримки цього співвідношення на оптимальному рівні в умовах виробництва змішують біомасу з високим вмістом вуглецю з відходами, в яких знаходиться велика кількість нітрогену. Суттєвий вплив на швидкість метаногенезу має рН поживного середовища. Встановлено, що інтенсивне утворення метану проходить при рН 6,8–7,4, а при рН нижче 6,4 і вище 7,8 знижується метаболічна активність оточення метанових бактерій, а при рН 9 – зовсім припиняється.

Висока швидкість утворення біогазу досягається також при концентрації в середовищі летючих карбонових кислот у межах 5–500 мг/л. При відхиленні в той чи інший бік швидкість метаногенезу уповільнюється. Процес метаногенезу відбувається при широкому діапазоні температур: від 0 до 20 °С –

психрофільний режим; від 20 до 40 °С – мезофільний режим; від 40 до 60°С – термофільний.

Для одержання біогазу можна використовувати свинячий гній, курячий послід, гній великої рогатої худоби, відходи рослинництва (солома ярових і озимих злакових культур, бурякове і картопляне бадилля, відходи переробки льону і т.п.) (табл. 3.3, 3.4). Для збільшення кількості нітрогену в масу, яка утилізується, вносять відходи, що містять високі його концентрації – курячий послід або свинячий гній. Із біомаси курячого посліду виходить більше біогазу, ніж із гною великої рогатої худоби або свиней.

Таблиця 3.3

Хімічний склад гною сільськогосподарських тварин,  
% у сухій речовині

Інгредієнти	Вид тварин			
	Велика рогата худоба		Свині	Кури
	Корови	Худоба на відгодівлю		
Органічна речовина	77–85	77–85	77–84	76–77
Сира клітковина	26,7–50,3	1	19,5–21,4	13,0–17,8
Сирий жир	2,9–4,3	–	3,5–4,0	2,4–42,1
Сирий протеїн	9,3–20,7	–	16,4–21,5	20,5–42,1
Лігнін	16–30	16–30	–	9,6–14,3
Співвідношення C:N	9:15	9:15	9:15	9:15
Азот	1,0–6,5	2,3–4,0	4,0–10,3	2,3–5,7
Фосфор	0,2–0,7	0,4–1,1	1,9–2,5	1,0–2,7
Калій	2,4	1,0–2,0	1,4–3,1	1,0–2,9
Кальцій	2,3–4,9	0,6–1,4	–	5,6–11,6
Магній	–	0,5–0,6	–	0,9–1,1

Вихід біогазу, як відомо, залежить від якості сировини, що визначається хімічним складом останньої. Максимальний вихід біогазу на стадії найбільш інтенсивного метаногенезу значною мірою залежить від хімічного складу біомаси, який визначається видом тварин, а отже, і раціоном, який вони отримують.

Таблиця 3.4

Хімічний склад відходів рослинництва, % у сухій речовині (за В. Банером)

Інгредієнти	Солома			Бадилля	
	житня	пшенична	кукурудз.	буря-кове	картопляне
Органічна речовина	95,4	91,4	91,7	78,5	78,9

Сира клітковина	47,5	45,5	33,3	11,5	23,8
Сирий жир	1,5	1,6	1,7	1,5	3,2
Сирий протеїн	2,9	2,9	7,5	12,5	14,5
Лігнін	15–20	15–20	5,5	–	–
Співвідношення C:N	80:150	90:165	30:65	18	17
Азот	0,46	0,46	1,20	2,0	2,34
Фосфор	0,12	0,09	0,11	0,26	0,20
Калій	0,88	0,79	2,32	3,57	1,67
Кальцій	0,19	0,14	0,19	1,40	2,57
Магній	0,05	0,07	0,30	0,60	0,83

При утилізації біомаси за допомогою анаеробної ферментації утворюється:

- метан (біогаз);
- нерозщеплені органічні речовини (шлам), кількість сухої речовини у шламі знижується на 50 % за рахунок входження його до біомаси бактерій в  $\text{CH}_4$  і  $\text{CO}_2$ ;
- надосадкова рідина (не має неприємного запаху), містить органічну речовину на 80 % менше вихідної концентрації (її можна зливати до каналізації або використовувати для вирощування рослин).

При утилізації гною в термофільних умовах (54–55 °С) швидкість утворення біогазу в 2,5–3 рази вище, ніж у мезофільному режимі (32–35°С). Часто перевагу надають мезофільному режиму, так як при цьому досягається економія енергії, необхідної для нагрівання поживного середовища. Крім того, мезофільна асоціація метаногенів не настільки чутлива до поживного середовища. З іншого боку є дані, що в термофільному режимі частка метану знижується. Так, із 1 кг сухої речовини гнойової біомаси одержують 0,4–0,6 м<sup>3</sup> біогазу. На біогазових установках, що працюють в умовах виробництва, із 1 кг сухої речовини гною великої рогатої худоби одержують 0,2–0,5 м<sup>3</sup>, а із такої ж кількості свинячого гною – 0,3–0,7 м<sup>3</sup> біогазу (реактор працює в мезофільному режимі).

Тривалість процесу ферментації біомаси, у тому числі й гною, в мезофільному режимі не менше 14 діб. У більшості випадків процес метаногенезу відбувається протягом 24–28 діб і більше.

Енергетична цінність 1 м<sup>3</sup> біогазу, який складається на 50 % із метану, досягає 18 МДж, а при 70 % вмісту метану – 25 МДж. Для порівняння – енергетична цінність природного газу (1 м<sup>3</sup>) – 34 МДж. Питання зберігання біогазу не вирішене, бо недоцільним є його зрідження. Розвантаження шламу краще здійснювати через короткі проміжки часу (6 годин), а не 20 діб. У значенні будівельного матеріалу його застосовують у бетоні, сталюму листі, склопластику.

## **Вирішення проблеми утилізації гною та рослинної біомаси**

Традиційний шлях утилізації гною – використання його для поліпшення родючості ґрунту. Наявність N, P, K, C дає збільшення гумусу (1 т гною = 40–50 кг гумусу). Щорічно в Латвії вносять 10-20 т гною на 1 га. Однак, внесення гною вимагає витрат на суворе дотримання санітарно-гігієнічних і екологічних вимог, а також необхідність підвищення рентабельності галузі.

Особливо гостро проблема утилізації гною постала у зв'язку з введенням до експлуатації крупних тваринницьких комплексів. Концентрація тварин на обмеженому просторі неминуче супроводжується накопиченням великої кількості гною. А отримані дані свідчать про те, що на прилеглих до свинарно-тваринницьких комплексів площах має місце позитивний баланс деяких важких металів.

Наприклад, протягом року об'єм гнойової маси, яка підлягала винищенню, на комплексі радгоспу «Росія» Черкаської області (24 тис. голів) дорівнював 23 тис. т твердої фракції і 110 тис. т рідкої фракції. У Калитянському свинарному комплексі (Київська область) (108 тис. голів) об'єм гнойової маси складав 128 тис. м<sup>3</sup> твердої фракції і 94 тис. м<sup>3</sup> мулу, а також 1,7 млн. м<sup>3</sup> рідкої фракції.

Поява проблеми утилізації гною і необхідність отримання все більшої кількості палива (газ, нафта, вугілля) призвела до об'єднання цих проблем у процесі одержання біогазу. Утилізація гною шляхом інтенсифікації процесу мінералізації органічних речовин у ґрунті або водоймищі, а також введення гною до раціону сільськогосподарських тварин, як спосіб його утилізації, відходять на другий план.

### **Утилізація біомаси за допомогою біогазових установок (БГУ)**

У 60 країнах світу намагаються вирішити екологічні та енергетичні проблеми за рахунок використання БГУ. При проектуванні біогазової установки виходять із того, що від однієї корови масою 500 кг за добу отримують з гною 4,8 кг сухої органічної речовини, із якої при 30-добовій переробці в реакторі утворюється 1–2,4 м<sup>3</sup> біогазу. Еквівалентну кількість біогазу одержують із гною, який виробляється протягом доби дев'ятьма свинями на відгодівлі (і шістьма свиноматками) – жива маса 60 кг.

Біогазова установка з переробки біомаси у біогаз складається із ємності для збору і зберігання гною, ферментеру (реактор, метантенк, камера бродіння), резервуара для одержання біогазу (газгольдеру, газозбірника), нагрівального і перемішувального пристроїв, контрольно-вимірювальної апаратури і засобів автоматизації.

З урахуванням конструктивних особливостей, які визначають ефективність і культуру виробництва, виділяють чотири рівня БГУ:

1. Найбільш простий технічний рівень: зброджувана біомаса не підігрівається і не перемішується. Реалізується в країнах з жарким кліматом (Африка, Південно-Східна Азія, Південна і Центральна Америка). Приклад: БГУ «Габор» (КНР), в якій метантенк і газгольдер заглиблені в землю і сполучені. Біомаса зброджується протягом 40 днів. Корисний об'єм камери 10

м<sup>3</sup>. Вихід біогазу 0,3–0,5 м<sup>3</sup> на 1 м<sup>3</sup> об'єму камери бродіння. Таких установок у Китаї 7,2 млн. Біогаз цих установок використовується в побутових умовах (освітлення, приготування їжі). На БГУ великої потужності, кількість яких 35 тис., одержують електроенергію.

В Індії широко розповсюджені БГУ, схожі на «Габор». Вони призначені для задоволення побутових енергетичних потреб однієї сім'ї. Їх продуктивність близько 1,72 м<sup>3</sup> біогазу на добу. Таких установок близько 100 тис. Планується довести їх кількість до 560 тис.

2. Другий рівень БГУ: проводять підігрів субстрату, перед завантаженням субстрат подрібнюють, проводять перемішування субстрату. Установкою такого типу є модель «Дормштадт». З 1 м<sup>3</sup> об'єму метантенку отримують у 4 рази більше біогазу ніж на моделі «Габор». Однак наявні і конструктивні недоробки:

а) недостатня тепло- і гідроізоляція, викликана заглибленням в землю метантенку, можливість утворення застійних зон при перемішуванні біомаси, яка перероблюється;

б) необхідність у додаткових енергетичних витратах на руйнування поверхневої кірки.

3. Третій рівень БГУ. У біогазових установках «Ліпп», «Райкі», «МББ», «Віма», вироблених у Німеччині, по-різному усунено відмічені вище недоліки, внесена конструктивна новизна (створено двокамерні метантенки і двокамерний газгольдер), що дозволило впровадити двоступеневий процес зброджування біомаси.

У першій камері, куди надходить подрібнена і підігріта біомаса, і де утворюються органічні кислоти, підтримується температура 35°C. У другій камері, яка розташована в центрі метантенку, відбувається термофільний процес метаногенезу. При цьому 1 м<sup>3</sup> об'єму метантенку дає 7 м<sup>3</sup> біогазу. Спеціалісти Німеччини вважають, що БГУ можуть бути рентабельні тільки у випадку, якщо на 1 людину приходиться більше 1 м<sup>3</sup> біогазу. «Ліпп», «Райкі», «МББ» і «Віма» дають 1,2–1,4 м<sup>3</sup> біогазу; в Німеччині кількість БГУ – 450. У Швейцарії близько 100, у Франції – 60, Англії – 50, в Японії – 10 БГУ. У США є установки з добовим виходом біогазу 43–73 тис. м<sup>3</sup>.

4. Четвертий рівень БГУ: додатково подрібнюється та перемішується біомаса.

#### **Використання біотехнологій виробництва біомаси гідробіонтів**

У 1980 році створена експериментальна бісолярна установка з виготовлення біомаси водоростей і подальшої утилізації її в метан (рис. 3.3). Конструкція системи забезпечує рециркуляцію всіх біогенних елементів. Фотосинтетичний блок бісолярної установки площею 30 м<sup>2</sup> забезпечує одержання біомаси хлорели, яка після концентрації і гомогенізації з метою руйнації клітинних структур, подається до камери бродіння, де відбувається анаеробна ферментація біомаси і утворення біогазу, що складається із метану (80 %), діоксиду вуглецю (16 %) і водню (2 %).

Конструкція бісолярної установки передбачає введення додаткової кількості  $\text{CO}_2$  повітря до фотосинтетичного блоку. Існують дані про можливість використання діоксиду вуглецю, що входить в біогаз, для підвищення КПД фотосинтезу в теплицях. Про потенційні можливості системи говорить той факт, що для одержання 1 млн. т умовного палива необхідно тільки 1,5 тис. т біогенних елементів (перш за все N, P, K та ін.).

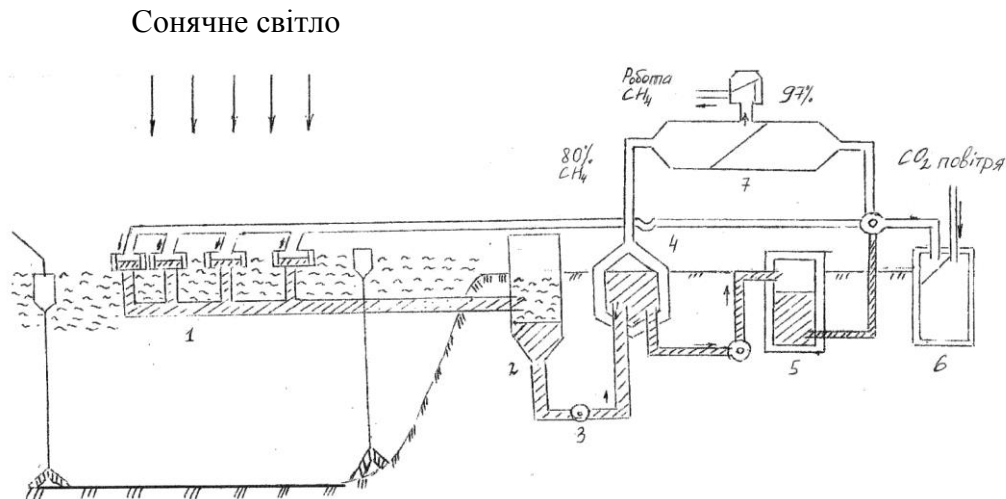


Рисунок 3.3 – Бісолярна установка

1 – фотосинтетичний блок, 2 – відстійник, 3 – декompресор, 4 – камера бродіння, 5 – регенератор, 6 – концентратор  $\text{CO}_2$ , 7 – сепаратор.

### ? Контрольні питання:

1. Що таке біометаногенез? Опишіть хімізм процесу, мікробну асоціацію.
2. Назвіть апаратуру та технологічні режими метанового бродіння.
3. Розкажіть основи біохімії і екології метанового бродіння.
4. Намалюйте схеми конверсії органічних речовин метаногенними асоціаціями бактерій.
5. Охарактеризуйте метаноутворюючі мікроорганізми.
6. Як залежить метаногенез від умов довкілля?
7. Дайте характеристику системі біогазових споруджень.
8. Які способи деструкції біомаси за допомогою біогазових споруджень використовують у різних країнах світу?
9. Опишіть схеми метантенків для виробництва біогазу при очищенні стічних вод.
10. Скільки виділяють рівнів біогазових установок:
  - а) 5;
  - б) 4;
  - в) 2;
  - г) 3.
11. На скільки фаз поділяється ацидогенез:
  - а) 2;

- б) 4;
  - в) 3;
  - г) 5.
12. Основним компонентом біогазу є:
- а) кисень;
  - б) водень;
  - в) азот;
  - г) метан.
13. Енергетична цінність 1 м<sup>3</sup> біогазу, що містить 50 % метану, досягає:
- а) 34 МДж;
  - б) 18 МДж;
  - в) 25 МДж;
  - г) 20 МДж.
14. Характерною особливістю метанових бактерій є:
- а) низька швидкість росту, чутливість до умов навколишнього середовища і відсутність в середовищі окиснювачів;
  - б) висока швидкість росту, низька чутливість до умов навколишнього середовища і наявність в середовищі окиснювачів;
  - в) низька швидкість росту, низька чутливість до умов навколишнього середовища і наявність в середовищі окиснювачів;
  - г) висока швидкість росту, низька чутливість до умов навколишнього середовища і відсутність в середовищі окиснювачів.
15. Інгібіторами метаногенезу є:
- а) CO<sub>2</sub>;
  - б) метан;
  - в) азот;
  - г) амонійний азот;
  - д) сульфат-іон;
  - ж) летючі жирні кислоти.
16. Найкращий шлях утилізації гною:
- а) підвищення родючості ґрунту;
  - б) отримання біогазу;
  - в) введення до раціону тварин;
  - г) інтенсифікація процесу мінералізації органічних речовин у водоймищі.
17. Найбільше біогазу виходить із біомаси:
- а) гною кролей;
  - б) гною великої рогатої худоби;
  - в) курячого посліду;
  - г) свинячого гною.
18. Найбільш сприятливим для розмноження метанових бактерій є середовище, в якому співвідношення С:N дорівнює:
- а) 1:1;
  - б) 1:3;

- в) 3:1;  
г) 2:1.
19. Інтенсивне утворення метану проходить при рН:  
а) 6,0–6,4;  
б) 7,8–8,5;  
в) 9,0–9,5;  
г) 5,5–6,0;  
д) 6,8–7,4.

#### Заняття № 4

### **Тема: ВИРОБНИЦТВА, ЗАСНОВАНІ НА ОДЕРЖАННІ МІКРОБНОЇ БІОМАСИ**

**Мета:** засвоїти знання про технології отримання та способи застосування білковмісних продуктів мікробного походження.

#### План

1. Типи мікробної біомаси. Переваги мікроорганізмів як джерела кормового білку.
2. Продуценти білкових речовин. Вимоги до продуцентів.
3. Етапи виробництва мікробних білкових препаратів.
4. Премікси. Пробиотики. Пребіотики.
5. Очищення стічних вод дріжджових виробництв.

**Основні терміни і поняття:** білково-вітамінний концентрат, ензиматично активна біомаса, премікс, пробиотик, пребіотик.

Промисловість випускає 2 типи мікробної біомаси:

- білок одноклітинних (цілі висушені неживі клітини бактерій, дріжджів або грибів, які використовують для корму тварин) – містить 40-65 % білку (рис. 4.1);
- ензиматично активна біомаса життєздатних пекарських дріжджів, бульбочкових бактерій для азотфіксації і патогенів комах (рис. 4.2).

Переваги мікроорганізмів як джерела кормового білку:

- висока швидкість розмноження (дає змогу за короткий час одержати велику біомасу);
- здатність зростати на відходах різних виробництв, що робить виробництво доволі дешевим;
- можливість створення автоматизованих процесів для керування розвитком мікроорганізмів в умовах виробництва;
- вища активність ферментативних систем мікроорганізмів на одиницю біомаси, ніж у рослин і тварин.

Як продуценти білку перспективними є дріжджі. Їх можна додавати до пшеничного хліба, компенсуючи в ньому відсутність незамінних амінокислот, а



особливо лізину. Кормові препарати з мікробної біомаси називають **білково-вітамінним концентратом**.

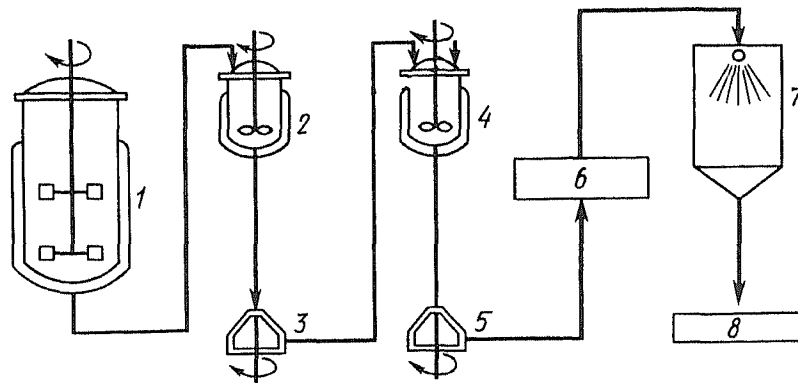


Рисунок 4.1 – Принципова схема виробництва кормових дріжджів

1 – ферментер, 2, 4 – збірник, 3, 5 – сепаратор, 6 – термообробка, 7 – сушильня, 8 – фасування

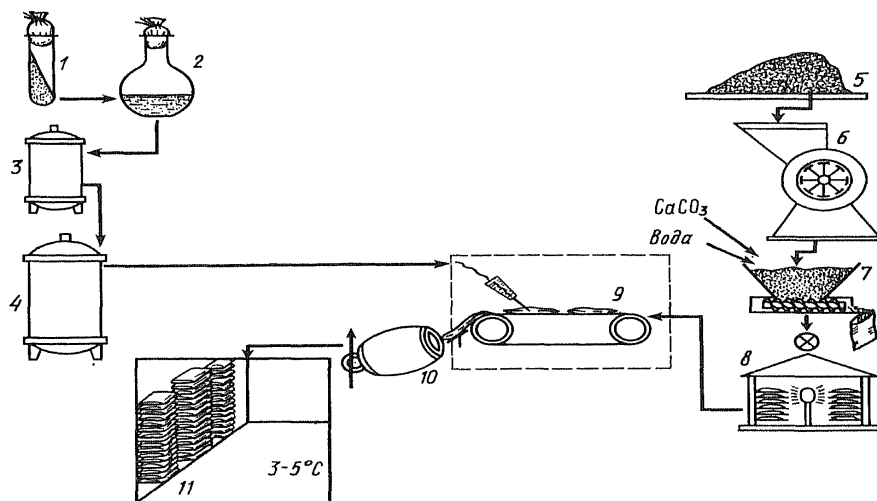


Рисунок 4.2 – Схема виробництва препарату бульбочкових бактерій

1 – косяк, 2 – колба, 3 – посівний ферментер, 4 – робочий ферментер, 5 – торф, 6 – установка для розмелу, 7 – апарат фасування, 8 – камера гамма-стерилізації, 9 – інокуляція, 10 – перемішування, 11 – термосклад

Основний недолік мікробної біомаси – великий вміст нуклеїнових кислот. При використанні у тваринництві це несуттєво, оскільки сечова кислота, що накопичується при деградації нуклеїнових кислот, у всіх тварин перетворюється уреазою в алантоїн, який легко виводиться з сечею. У людей цей фермент відсутній, тому в організмі можуть накопичуватися урати, внаслідок чого виникає подагра.

Способи зниження вмісту нуклеїнових кислот:

- методи теплового шоку (витримують дріжджі при +50-55 °С декілька годин, в результаті чого активуються внутрішньоклітинні РНК-ази);

- використання екзогенних рибонуклеаз;
- використання розчинів лугів, кислот та метанолу.

Субстрати для отримання білку одноклітинних: метан, метанол, етанол, меляса, нафта, молочна сироватка, відходи виробництва крохмалю, целюлозної та деревообробної промисловості.

Продуценти білкових речовин:

- дріжджі *Candida maltosa*, *C. robusta*, *C. tropicalis*, *C. rugosa*;
- дріжджі *Pichia pectoris*, *P. guilliermondii*;
- бактерії *Pseudomonas fluorescens*, *Ps. canolatus*;
- бактерії *Mycobacterium filiformae*, *M. vadosum*, *M. phleu*, *M. lacticolum*.

Вимоги до продуцентів:

- мати мінімальний час генерації;
- нагромаджувати до 40-70 % білку від усієї ваги;
- максимально засвоювати поживні речовини середовища;
- не виділяти в середовище шкідливі продукти метаболізму і не бути патогенними;
- мати високу стійкість до виживання в нестерильних умовах;
- легко відокремлюватися від рідкої фази середовища при сепаруванні та флоатації.

Етапи виробництва мікробних білкових препаратів:

1. Підготовка сировини і виготовлення поживних середовищ.
2. Культивування мікроорганізмів.
3. Виділення біомаси продуцента з культуральної рідини.
4. Плазмоліз клітин і сушіння біомаси.
5. Фасування та пакування готового препарату.

Для підвищення поживної цінності кормового білку його збагачують вітамінами на різних стадіях виробництва.

До ензиматично активної біомаси належать:

- хлібопекарські пресовані дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*) – використовуються для випікання хліба (містять близько 30 % сухої речовини);
- активні сухі дріжджі (перед використанням регідратують у воді).

**Премікси** – комплекс спеціальних домішок із фізіологічно активних речовин для підвищення повноцінності кормів для тварин. У корм додають 0,2-1 % преміксу від ваги корму. Основні компоненти преміксів:

- наповнювач (продукти переробки зерна, кормові дріжджі);
- препарати біологічно активних речовин (антибіотики, ферменти, вітаміни, амінокислоти, мікроелементи, антиоксиданти, заспокійливі засоби);
- допоміжні речовини (адсорбенти, стабілізатори).

**Пробіотики** – лікувальні препарати, що містять живі культури мікроорганізмів, які є представниками нормальної мікрофлори людини, та

призначені для профілактики і лікування дисбіозів, для стабілізації та корекції аутофлори людини та тварин.

**Пробіотики** – препарати, в яких містяться продукти життєдіяльності мікроорганізмів-антагоністів патогенів («Хілак-форте»).

Групи пробіотиків:

- препарати, що містять живі мікроорганізми (монокультури та комплекси, наприклад «Лінекс», «Біфіформ»);
- препарати, що містять структурні компоненти мікроорганізмів та їх метаболіти;
- препарати, що містять комплекс живих мікроорганізмів, структурних компонентів і метаболітів;
- препарати, що створені на основі генно-інженерних штамів мікроорганізмів із заданими властивостями;
- продукти функціонального харчування (йогурти, біокефіри).

Вимоги до мікроорганізмів, що входять до складу пробіотиків:

- висока безпечність штамів;
- наявність конкурентних властивостей;
- стійкість до антибіотиків;
- наявність адгезивної здатності до клітин епітелію травного тракту людини;
- висока швидкість росту;
- здатність сприймати широкий спектр нутрієнтів.

На дріжджових заводах промислові відходи складаються з відпрацьованого м'ясового сусла і промивних вод, службових для охолодження і промивання готової продукції. Разом із стічними водами видаляється органічних речовин.

Основними джерелами утворення високо забруднених вод спеціалізованих дріжджових заводів є скидання з дріжджовирощувальних апаратів при нестерильних ферментації, води від миття обладнання, приміщень, промивання дріжджів і т. д.

Основним недоліком сучасних дріжджових заводів, які в якості субстрату використовують м'ясу, – утворення у великих кількостях після дріжджової барди яка підлягає подальшій утилізації. Такі особливості стоків зумовлюють утворення високо іонізованих стоків з рН 3,5–5; площі сільськогосподарських угідь що використовуються під полями фільтрації перетворюються у відстійники барди й стічних вод; неповна утилізація органічних речовин м'яси й м'ясної барди.

У технологічному процесі виробництва дріжджів є декілька місць, де відбувається скидання стічних вод безпосередньо у каналізацію. Такими стічними водами можуть бути чисті стоки – води з теплообмінників, а в іншому випадку це висококонцентровані стічні води. Промислові стоки містять у

своєму складі практично усі речовини, що переходять в гідролізат в процесі гідролізу, хімікати, вживані у виробництві, продукти життєдіяльності дріжджів.

У стічних водах гідролізатно-дріжджових заводів сильним забруднювачем є фурфурол в концентрації до 50 мг/л, в стоках виробництва білково-вітамінних концентратів (БВК) на н-парафінах підвищена концентрація вуглеводнів – до 600 мг/л, а забруднення стоків мікробіологічних виробництв з БСК – 3000 мг/л.

Методи очищення стічних вод поділяються на шість основних напрямків : механічні, хімічні, фізичні, фізико-хімічні, фізико-механічні, біологічні. Особливості та послідовність застосування кожного із методів, залежить від різних факторів таких як якісний і кількісний склад, ступінь забруднення стічних вод дріжджових заводів.

Механічне очищення базується на відстоюванні в спеціальних резервуарах, відокремлення освітленої фази стоків від нерозчинних домішок з подальшою можливою їх реорганізацією та утилізацією, фільтрування яке забезпечується піщаними фільтрами або спеціальними фільтрами. Отриману після фільтрування воду змішують з первинно більш забрудненою водою для її усереднення, тобто доведення вмісту домішок до певних конкретних стандартів, які регламентують та дозволяють скидання стічних вод у водойми або каналізацію.

Фізичні методи базуються на випаровуванні з метою отримання розчинних у воді речовин в кристалічному стані з їх подальшим використанням; обробка магнітним полем, яке зменшує утворення нерозчинних осадів, сприяє їх розрихленню. Фізико-механічні методи базуються на застосуванні механічних пристроїв, що діють на законах фізики: флотація, гіперфільтрація або зворотний осмос, ультрафільтрація, електродіаліз.

Хімічні методи засновані на зміні хімічного складу речовин, зокрема на перетворенні водорозчинних сполук у газоподібні, нерозчинні, наприклад осади, які потім відокремлюють і утилізують або захоронюють. Ці методи вимагають великої кількості хімічних реактивів, а отже є затратними, економічно недоцільними.

У методах біологічної очистки стічних вод використовують спеціальні штами, рас мікроорганізмів, які володіють здатністю строго специфічного поглинання певних речовин. Процес відбувається в добре аерованих умовах – аеробні мікроорганізми, або без аерації – анаероби в спеціальних реакторах – аеротенках, біотенках, на спеціальних територіях – полях фільтрації.

Особливостями очистки стічних вод дріжджового виробництва є необхідність виконання ряду найважливіших вимог: усереднення промислових стоків за складом і витратою; попередня анаеробна очистка в біореакторі; застосування двоступінчастої схеми біологічної очистки в аеротенках з локальними системами біоценозу й незалежних контурів рециркуляції активного мулу; розбавлення концентрованих стоків комунальними водами на кожному ступені очистки у спів відношенні 1:2 перед першим ступенем та від 3:1 до 5:1 перед другим ступенем.

### **? Контрольні питання:**

1. Охарактеризуйте біотехнології виробництва біомаси гідробіонтів.
2. Які ви знаєте препарати проти гризунів?
3. Які ви знаєте грибні препарати захисту рослин?
4. Перерахуйте бактеріальні препарати проти комах.
5. Назвіть препарати бульбочкових бактерій.
6. Охарактеризуйте препарати, що нормалізують мікрофлору людини.
7. Як отримують вакцини?
8. Розкажіть історію використання мікроорганізмів для виробництва білка.
9. Лікувальні препарати, що містять живі культури мікроорганізмів, які є представниками нормальної мікрофлори людини, та призначені для профілактики, називаються:
  - а) пробіотики;
  - б) пребіотики;
  - в) премікси;
  - г) антибіотики.
10. Препарати, в яких містяться продукти життєдіяльності мікроорганізмів-антагоністів патогенів, називаються:
  - а) премікси;
  - б) антибіотики;
  - в) пребіотики;
  - г) пробіотики.
11. Кормові препарати з мікробної біомаси називаються:
  - а) премікси;
  - б) білково-вітамінні концентрати;
  - в) пробіотики;
  - г) пребіотики.
12. Основний недолік мікробної біомаси:
  - а) великий вміст білку;
  - б) великий вміст вуглеводів;
  - в) великий вміст нуклеїнових кислот;
  - г) великий вміст жирів.
13. Комплекс спеціальних домішок із фізіологічно активних речовин для підвищення повноцінності кормів для тварин називається:
  - а) білково-вітамінний концентрат;
  - б) премікс;
  - в) пробіотик;
  - г) пребіотик.
14. До способів зниження вмісту нуклеїнових кислот не належить:
  - а) метод теплового шоку;
  - б) використання рібонуклеаз;
  - в) використання метанолу;
  - г) використання УФ-опромінення;

- д) використання кислот та лугів.
15. У вимоги до продуцентів білкових речовин не входить:
- а) здатність мати мінімальний час генерації;
  - б) здатність нагромаджувати до 40-70 % білку від усієї ваги;
  - в) здатність максимально засвоювати поживні речовини середовища;
  - г) висока стійкість до виживання в нестерильних умовах;
  - д) здатність виділяти в середовище небезпечні продукти метаболізму.
16. У вимоги до мікроорганізмів, що входять до складу пробіотиків, не входить:
- а) висока безпечність штамів;
  - б) стійкість до антибіотиків;
  - в) низька швидкість росту;
  - г) наявність конкурентних властивостей;
  - д) здатність сприймати широкий спектр нутрієнтів.
17. Білок одноклітинних – це ...
- а) бульбочкові бактерії;
  - б) пекарські дріжджі;
  - в) цілі висушені неживі клітини бактерій, дріжджів або грибів;
  - г) живі клітини бактерій, дріжджів або грибів.
18. До продуцентів білкових речовин не належать:
- а) *Candida maltosa*;
  - б) *Pichia pectoris*;
  - в) *Pseudomonas fluorescens*;
  - г) *Pediococcus cerevisiae*;
  - д) *Mycobacterium filiformae*.

## Заняття № 5

### **Тема: ВИРОБНИЦТВО МОЛОЧНИКИСЛИХ ПРОДУКТІВ. ПРОПІОНОВОКИСЛЕ БРОДІННЯ**

**Мета:** сформувати поняття про пропіоновокисле бродіння та його застосування в промисловості, поглибити знання про виробництво молочнокислих продуктів.

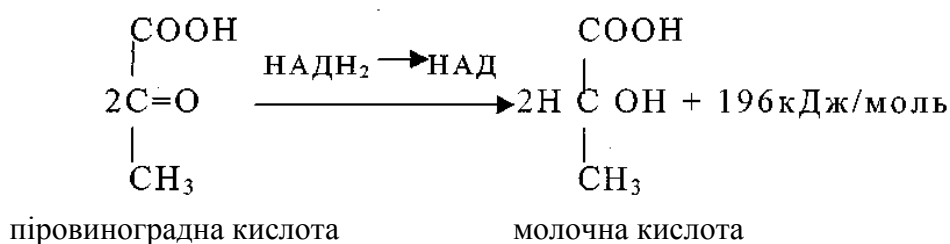
#### План

1. Поняття про молочнокисле бродіння.
2. Розповсюдження молочнокислих бактерій. Потреба в чинниках росту.
3. Отримання кисломолочних продуктів.
4. Отримання сичужних сирів.
5. Пропіоновокисле бродіння.
6. Очищення стічних вод молочної промисловості.

**Основні терміни і поняття:** молочнокисле бродіння, екзоферменти, ендоферменти, конститутивні ферменти, індукцйбельні ферменти, алостеричні ферменти.

Еволюційно молочнокисле бродіння вважається одним з найстародавніх і найпримітивніших типів бродіння. За характером бродіння і кінцевими продуктами розрізняють: гомоферментативне і гетероферментативне молочнокисле бродіння.

**Гомоферментативне бродіння:** в основі його лежить гліколітичний цикл зброджування з утворенням 2 молекул пірвинуградної кислоти. Остання, виступаючи кінцевим акцептором гідрогену, відновлюється до єдиного продукту – молочної кислоти.



Збудники: коки *Streptococcus* і *Pediococcus*, і паличкоподібні *Lactobacillus*. Наприклад: *Streptococcus lactis*, *Str. faecalis*, *Str. thermophiles*, *Lactobacillus lactis* (температурний оптимум 40-42 °С), *L. bulgaricus*, *L. casei* (температурний оптимум 30-37 °С), *L. plantarum*. Зброджують за цим шляхом тільки моно- і дицукри (глюкозу, лактозу). Зброджують до 98% цукру, що знаходиться в середовищі, до молочної кислоти.

**Гетероферментативне бродіння:** в основі його лежить пентозофосфатний шлях і кінцевими продуктами є: молочна кислота, оцтова кислота, етиловий спирт, гліцерин і вуглекислий газ. При зброджуванні глюкози цим шляхом утворюються: молочна кислота, етанол, вуглекислий газ; при зброджуванні фруктози – молочна і оцтова кислоти, вуглекислий газ, маніт. Можуть зброджувати пентози і глюконову кислоту. Збудники – бактерії родів *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*.

Є бактерії, які можуть здійснювати як гомо-, так і гетероферментативне бродіння, зброджуючи гексози за гліколітичним шляхом, а пентози – за пентозофосфатним.

Специфічні молочнокислі бактерії роду *Bifidobacterium* здійснюють гетероферментативне бродіння. Найбільш розповсюджений вид *Bifidobacterium bifidum*, що отримав таку назву за Y, V, W-форму (*bifidum* – роздвоєний), та переважає в кишечнику грудних дітей. Специфічність розвитку цих бактерій полягає в тому, що необхідний для їх існування в якості джерела вуглеводів N-ацетилглюкозамін міститься тільки в молоці матері. Всі вони строгі анаероби, не переносять присутності кисню і для їх зростання потрібна

атмосфера, що містить 10 % вуглекислого газу. Були виявлені і в кишечнику дорослих людей, і в мулі. Рід *Bifidobacterium* зараз відносять до актиноміцетів, а не до сімейства *Lactobacillaceae*.

### **Розповсюдження молочнокислих бактерій**

У природі розповсюдження молочнокислих бактерій визначається їхніми складними потребами в поживних речовинах і способом отримання енергії. Ці бактерії майже ніколи не зустрічаються в ґрунті і водоймищах. Місця найбільшого розповсюдження:

1. У молоці, місцях його переробки і молочних продуктах: *Lactobacillus lactis*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *Streptococcus lactis*.

2. На рослинах і рослинних залишках, що розкладаються: *L. plantarum*, *L. brevis*, *Str. lactis* *Leuconostoc mesenteroides*.

3. У кишечнику і слизових оболонках людини і тварин: *L. acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Str. faecalis*, *Str. pyogenes*, *Str. pneumoniae*.

4. Багато стрептококів живуть на слизових оболонках рота, дихальних і сечових шляхів, статевих органів. Проте, серед них є паразити крові і дуже небезпечні збудники.

Через те, що молочнокислі бактерії утворюють дуже багато молочної кислоти, вони самі до неї стійкі і можуть швидко витіснити інші бактерії. Тому, їх легко культивувати на селективних середовищах і легко виділяти. Природні накопичувальні середовища – молоко, кисле тісто, кисла капуста, силос (зелена біомаса кукурудзи в анаеробних умовах).

### **Потреба в чинниках росту**

Характерна ознака молочнокислих бактерій – потреба в ростових чинниках. Жоден із представників цієї групи не може зростати на середовищі з глюкозою і солями амонію. Більшість з них має потребу у ряді вітамінів (тіамін, біотин, пантотенова, нікотинова, фолієва кислоти) і амінокислот, а також пуринах та піримідинах.

Культивують ці бактерії на складних середовищах, що містять велику кількість дріжджового екстракту, томатного соку, молочної сироватки і навіть крові. Виявилось, що при зростанні на середовищах з кров'ю у молочнокислих бактерій утворюються цитохроми і вони здатні здійснювати фосфорилування в дихальному ланцюзі.

Таким чином, молочнокислі бактерії не здатні синтезувати багато метаболітів. З іншого боку, більшість з них здатні використовувати лактозу і цим вони близькі до кишкової палички. Ця особливість є пристосуванням до навколишнього середовища.

Багато молочнокислих бактерій здатні синтезувати речовини, що володіють антибіотичними властивостями (лактолін, бревін, низін, диплококцин). На цьому заснована їхня дія як антагоністів гнильних і хвороботворних бактерій в кишечнику людини.



Живуть молочнокислі бактерії при різних температурах: 40–42 °С (термофіли), 25–30 °С (мезофіли). Оптимальний рН=7, але можуть і при рН=5–5,8. Як буфер застосовують CaCO<sub>3</sub>.

### Отримання кисломолочних продуктів

Розрізняють 2 типи молочнокислих продуктів в залежності від способу отримання:

1. Молочнокислі продукти, отримані в результаті чистого гомоферментативного молочнокислого бродіння. Це простокваші, йогурти, кисляк. Їх готують шляхом спонтанного скисання молока за рахунок присутності в молоці бактерій або шляхом внесення заквасок у вигляді чистих культур: *Lactobacillus bulgaricum*, *L. Acidophilum*. Для отримання масла застосовують культуру *Pediococcus cerevisiae*. Кінцеві продукти містять ацетон і діацил (надає гарний запах).

2. Молочнокислі продукти, отримані в результаті змішаного бродіння – спиртового і молочнокислого. Таким шляхом отримують кефір і кумис. Кефір готують на «кефірних грибках», основу яких складають нитчаста бактерія *Str. lactis*, дріжджі, оцтовокислі бактерії. Залежно від ступеня дозрівання розрізняють: слабкий кефір – 1 день бродіння; середній кефір – 2 дні бродіння; міцний кефір – 3 дні бродіння. Незалежно від дня він повинен мати молочнокислий смак. Для отримання кефіру з вираженим спиртовим бродінням процес ведуть при температурі 16–20 °С, а не при 22–28 °С як молочнокисле. Кумис готують з кобилячого молока (в ньому 6 % цукру). В ньому енергійно йде спиртове бродіння. Основна культура – болгарська паличка.

Показники якості кисломолочних продуктів:

- наявність активної мікрофлори (молочнокислі бактерії);
- наявність молочної кислоти.

**Стабілізатори** – речовини, що вводять до складу молочних продуктів для зміцнення структури та надання стійкості під час зберігання. Належать до колоїдів. Розрізняють: натуральні стабілізатори – рослинні (пектин, агар, камеді) та тваринні (желатин); штучні (гідроксиметилцелюлоза).

### Отримання сичужних сирів

Виробництво сирів складається з двох етапів:

- звурджування білків молока (коагуляція), які утворюють твердий осад і з якого видаляється рідина;
- дозрівання сирів – складний ферментативний процес, в якому беруть участь безліч мікроорганізмів.

У молодому сирі весь нітроген входить до складу нерозчинного білку, але по мірі дозрівання сиру білок розщеплюється на розчинні пептиди, амінокислоти, жирні кислоти, аміак. Наприклад, у швейцарському сирі у розчинні продукти входить 20–30 % білку, в латвійському – практично увесь. Йде також гідроліз жирів, перетворення молочної кислоти в пропіонову.

Для виробництва молочної кислоти в промисловості використовують глюкозу, сахарозу, лактозу, а також мелясу. Для зброджування молочної

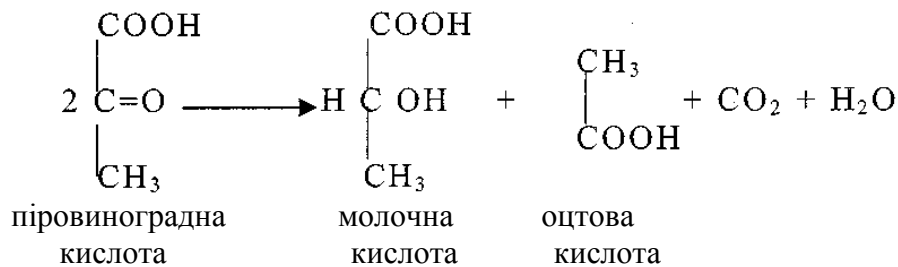
сироватки можна користуватися чистою культурою *L. bulgaricum*, меляси – краще *L. delbrukii*.

### Пропіоновокисле бродіння

Пропіоновокислі бактерії *Propionibacterium freudenreichii* – аеротолерантні анаероби або факультативні аероби. Мешкають у кишковому тракті жуйних, на рослинах. Грам-позитивні, нерухомі, не утворюють спор, для них характерне бінарне дроблення. Це факультативні анаероби, що виділяють каталазу. Морфологічно схожі з коринебактеріями. Розташовуються парами, ланцюжками. Часто зустрічаються разом із молочнокислими бактеріями, які можуть стимулювати та інгібувати їхній розвиток. Клітини булавоподібної та конусної форми, коковидні, розгалужені у вигляді V або Y, або у вигляді китайських ієрогліфів.

Для росту пропіоновокислі бактерії вимагають середовище з білками і амінокислотами, але можуть розвиватися і на простих джерелах нітрогену (солі амонію) у присутності вітамінів (біотин, пантотенова кислота). Оптимальна температура 30–37°C, оптимальний рН=7.

Під дією *Propionibacterium freudenreichii* зброджування глюкози йде гліколітичним шляхом до пірвіноградної кислоти. Потім залежно від умов утворюються пропіонова, оцтова, бурштинова, молочна кислоти і вуглекислий газ. Пропіонова кислота інгібує розвиток багатьох бактерій.



Пропіонові бактерії використовують у промисловості для отримання вітаміну B<sub>12</sub>, який вони утворюють у великих кількостях.

### Очищення стічних вод

Промислові стічні води, які утворюються на підприємствах молочної галузі поділяються на два види: забруднені і мало забруднені. Забруднені стічні води утворюються після очищення обладнання, технологічних трубопроводів, автомобільних цистерн, підлог, панелей виробничих приміщень та ін. Мало забруднені води утворюються в результаті процесів охолодження молока та обладнання. Обидва види стічних вод утворюють загальний стік, який підлягає очищенню, знезараженню і викиду у системи водовідведення або поверхневі водойми (в залежності від хімічного складу).

Стічні води молокопереробних підприємств відносяться до категорії висококонцентрованих вод з нестабільним складом. Основними нормативними показниками, якими прийнято характеризувати небезпечність стічних вод молокопереробних підприємств є хімічне споживання кисню (ХСК) (1000–5000

мг  $O_2$ /л), біохімічне споживання кисню (БСК) (700–3700 мг  $O_2$ /л), загальний вміст етеророзчинних речовин (200–400 г/л), загальний вміст нітрогену (20–170 мг/л), показник кислотності рН (3,6–10,4), прозорістю (0,8–2,0 см). Окрім згаданих показників стічні води технологій переробки молока характеризуються підвищеним вмістом завислих речовин (1200–2900 мг/л), сульфатів-іонів  $SO_4^{2-}$  (140–160 мг/л), хлорид-іонів  $Cl^-$  (168–400 мг/л), іонів амонію  $NH_4^+$  (6–12 мг/л), фосфат-іонів  $PO_4^{3-}$  (100–145 мг/л), іонів кальцію  $Ca^{2+}$  (150–200 мг/л), а також сухого (2500–8000 мг/л) та прожареного (500–1500 мг/л) залишків. Дисперсна фаза стічних вод представлена нерозчинними у воді жирами та частинками коагульованого білка. Внаслідок високого вмісту білкових речовин, вуглеводнів і жирів, стічні води швидко загнивають і закисають. При цьому відбувається бродіння молочного цукру, що призводить до осадження казеїну та інших протеїнових речовин. Вищевказані процеси супроводжуються виділенням газів з неприємним запахом.

Величина рН стічних вод у значній мірі визначається технологіями виробництва та асортиментом продукції, що випускається. Для виробництв, які не пов'язані з процесами молочнокислого бродіння (молочноконсервні, маслоробні заводи), рН стічних вод близько до нейтрального (6,8–7,4). Найбільш небезпечними є стічні води, що утворюються під час виробництва казеїну, твердих сирів та молочнокислого сиру. Це пов'язано з тим, що в процесі переробки утворюється побічний продукт – молочна сироватка. Наявність молочної сироватки зумовлює зниження рН стічних вод до 4,5. Коливання значень рН загального стоку часто викликані використанням різноманітних за складом хімічних миючих засобів.

Очевидно, що хімічний склад впливає на технології та технологічні схеми, які використовуються для очищення та знезараження стічних вод. До них відносяться метод біологічної очистки, фізико-хімічні методи, такі як, коагуляція, відстоювання, флотація, а також хімічні методи з використанням хімічних реагентів. До традиційних методів очистки стічних вод підприємств молочної промисловості відносяться найбільш широко відомі у вітчизняній та закордонній літературі методи біологічної очистки. Проте, внаслідок високої концентрації забруднень у стічних водах, які потрапляють до біологічних очисних споруд, у більшості випадків не забезпечується необхідний ступінь очищення та, крім того, порушується робота біологічних споруд аж до повної їх паралізації. У зв'язку з цим останнім часом приділяється увагу розробці методів попередньої очистки, що дозволяє знизити концентрацію жирів, зважених речовин, біогенних елементів у стічних водах до санітарних норм, за яких забезпечується ефективна робота біологічних очисних споруд. Одним з простіших методів попередньої очистки є відстоювання. Використання відстоювання у системах споруд механічної очистки дозволяє знизити концентрацію жирів та зважених речовин у стічних водах на 40-50%.

На основі аналізу стічних вод розроблена технологія анаеробно-аеробної обробки стоків маслозаводу. За кількісним та якісним складом забруднень

стоки молокопереробних підприємств – добре поживне середовище для розвитку метаноутворюючих мікроорганізмів. При використанні анаеробної ферментації утворюється біогаз. Складність біохімічного очищення стічних вод молокозаводів в аеротенках в тому, що стоки містять лактозу, яка швидко метаболізує, і білки, що повільно розкладаються аеробними мікроорганізмами. Для інтенсифікації очищення стоків цього підприємства слід оптимізувати процес повітропостачання та включити в технологію очищення стадію метанової ферментації. Використання метанової ферментації дозволяє додатково отримати метан та білкову біомасу. В біомасі мікроорганізмів очисних споруд азот міститься, як правило, в амонійній та білковій формах, які легко мінералізуються та активно впливають на підвищення гумусності ґрунтів. Високий вміст біогенних елементів дозволяє суттєво знизити використання мінеральних добрив, особливо фосфорних, які є необхідним фоном під час внесення в ґрунт органічних добрив. Особливістю активного мулу метанової ферментації є високий вміст ціанокобаламіну – 40-50 мкг в 1г сухої речовини, тоді як в активному мулі, що утворюється під час аеробного окиснення, 25-30 мкг в 1 г. Це дає можливість використання анаеробного активного мулу як кормового вітаміну B2.

Технологічну схему очищення стічних вод ВАТ «Ува-молоко» представлено на рисунку 5.1. Очищення стічних вод на молокозаводі може проводитися з використанням двох ступенів (основне очищення і доочищення) за кількома варіантами.

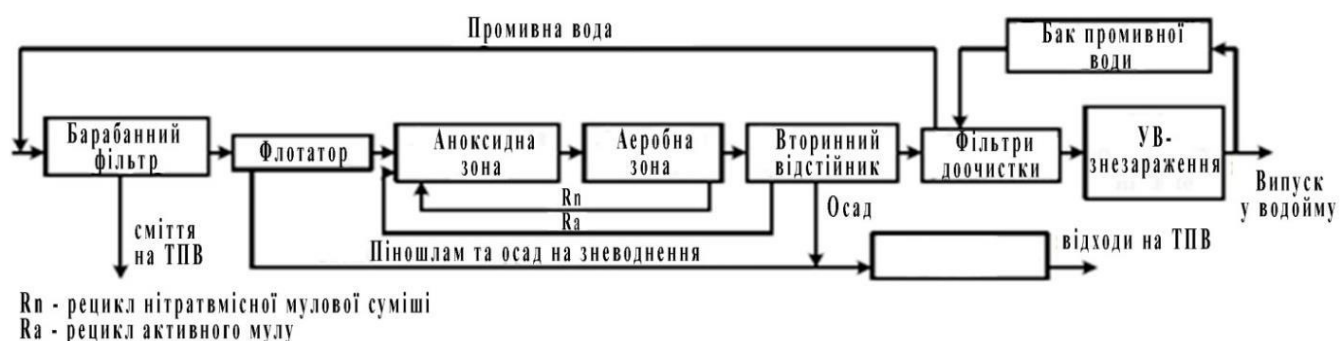


Рисунок 5.1 – Технологічна схема очищення стічних вод ВАТ «Ува-молоко»

На першому етапі очищення в технології необхідно передбачити жируловлювач для затримання часточок жиру, але при температурах стічної води більше 30°C він виявляється не ефективним. Тоді потрібне встановлення теплообмінника для зниження температури вихідного середовища. Далі необхідна механічна стадія для запобігання потрапляння в реакційне обладнання дрібних та великих відходів, які містяться у виробничих стічних водах.

Перед надходженням в усереднювач необхідно зробити коригування рН розчинів реагентів. Далі промислові стоки, що очищаються, проходять попередню фізико-хімічну обробку у флотаційних установках, де відбувається

видалення дрібнодисперсних частинок неорганічної органічної природи і підготовка для повного біологічного очищення.

Попередньо очищені стоки спрямовують в аеротенки, де за допомогою прикріпленого біоценозу відбувається вилучення органічних забруднюючих речовин, відділення надлишкового активного мулу, його зневоднення. Зневоднення може проводитися шляхом підсушування на мулових майданчиках або на стрічковому фільтр-пресі. Далі очищені стічні води знезаражуються за допомогою ультрафіолетового випромінювання перед надходженням у водні об'єкти рибогосподарського призначення.

На очисній станції «Флотенк» також використовують технології очищення стічних вод молочної промисловості, схему однієї з них показано на рисунку 5.2.

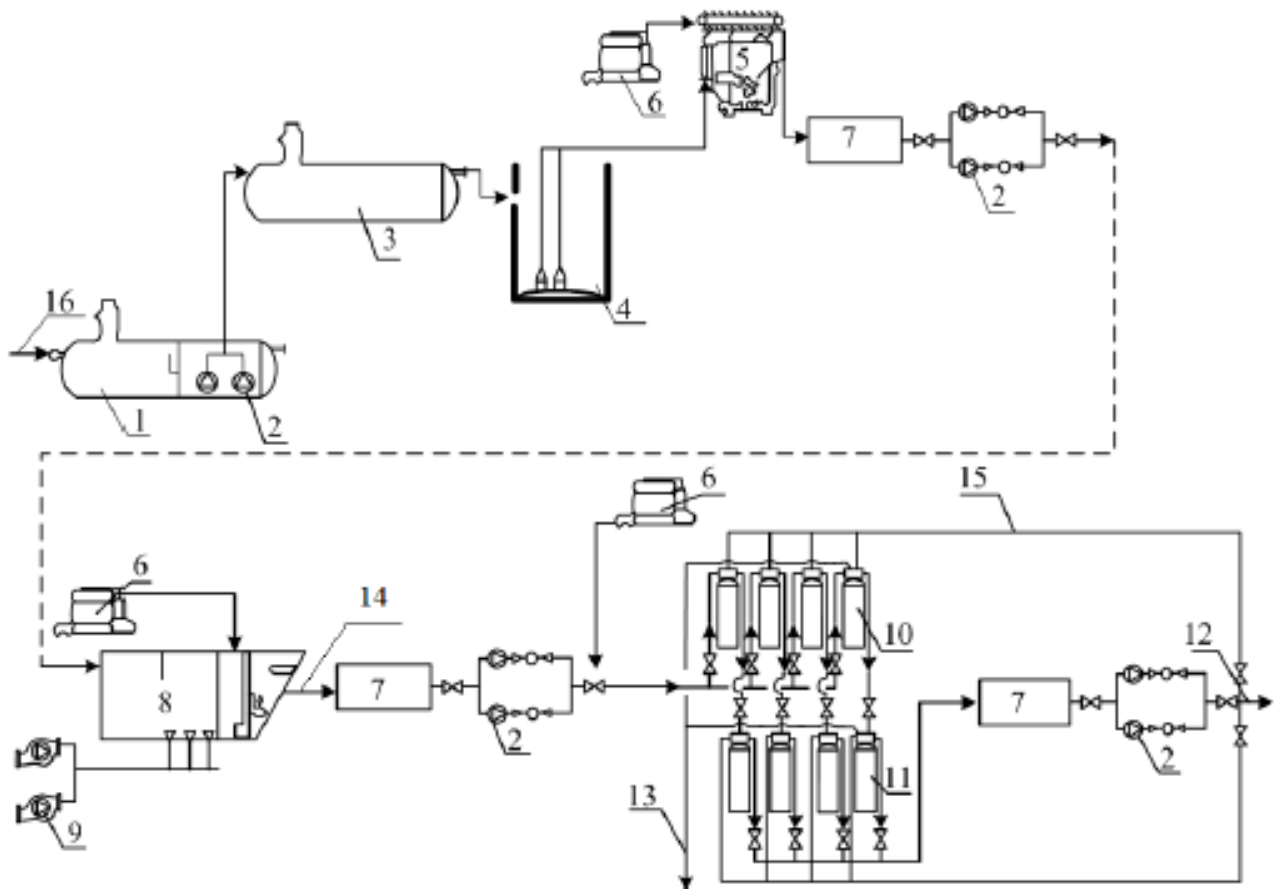


Рисунок 5.2 – Схема очищення стічних вод молочної промисловості

1 – жировловлювач; 2 – насос; 3 – усереднювач; 4 – насосна станція; 5 – флотатор; 6 – станція дозування; 7 – резервуар чистої води; 8 – біореактор (нітрифікатор, денітрифікатор); 9 – повітрорудувки; 10 – осаджувальний фільтр; 11 – сорбційний фільтр; 12 – подача очищеної води на знезараження; 13 – відведення промивної води; 14 – відведення надлишкового мулу з вторинного відстійника; 15 – подача води на промивку фільтрів; 16 – надходження води на очистку

Установка очищення стічних вод FloTenk-PROM призначена для очищення стічних вод витратою від 25 до 1000 м<sup>3</sup>/добу. До складу установки можуть входити блоки: каналізаційна насосна станція, блок усереднення, блок фізико-хімічного очищення, блок біологічної очистки, блок доочищення стічних вод, блок обробки осаду.

Залежно від виду продукції і застосовуваної технології стоки мають різний якісний і кількісний склад, і навіть реакцію середовища – можлива, як кислотна, так і лужна. Важливим моментом є роздільне відведення та накопичення сироватки в ємності для подальшої утилізації, оскільки її скидання спільно зі стоками на очисні споруди негативно позначається на процесах очищення, знижують ефективність та погіршують якість очищеної води.

Крім того, залпові надходження промивних вод з кислою або лужною реакціями середовища потрібно нейтралізувати також в окремих ємностях, або поступово протягом доби дозувати в усереднювач очисних споруд молокозаводу. Розглянемо складові технології очищення стічних вод молокозаводу, що представлена на рисунку 5.3.

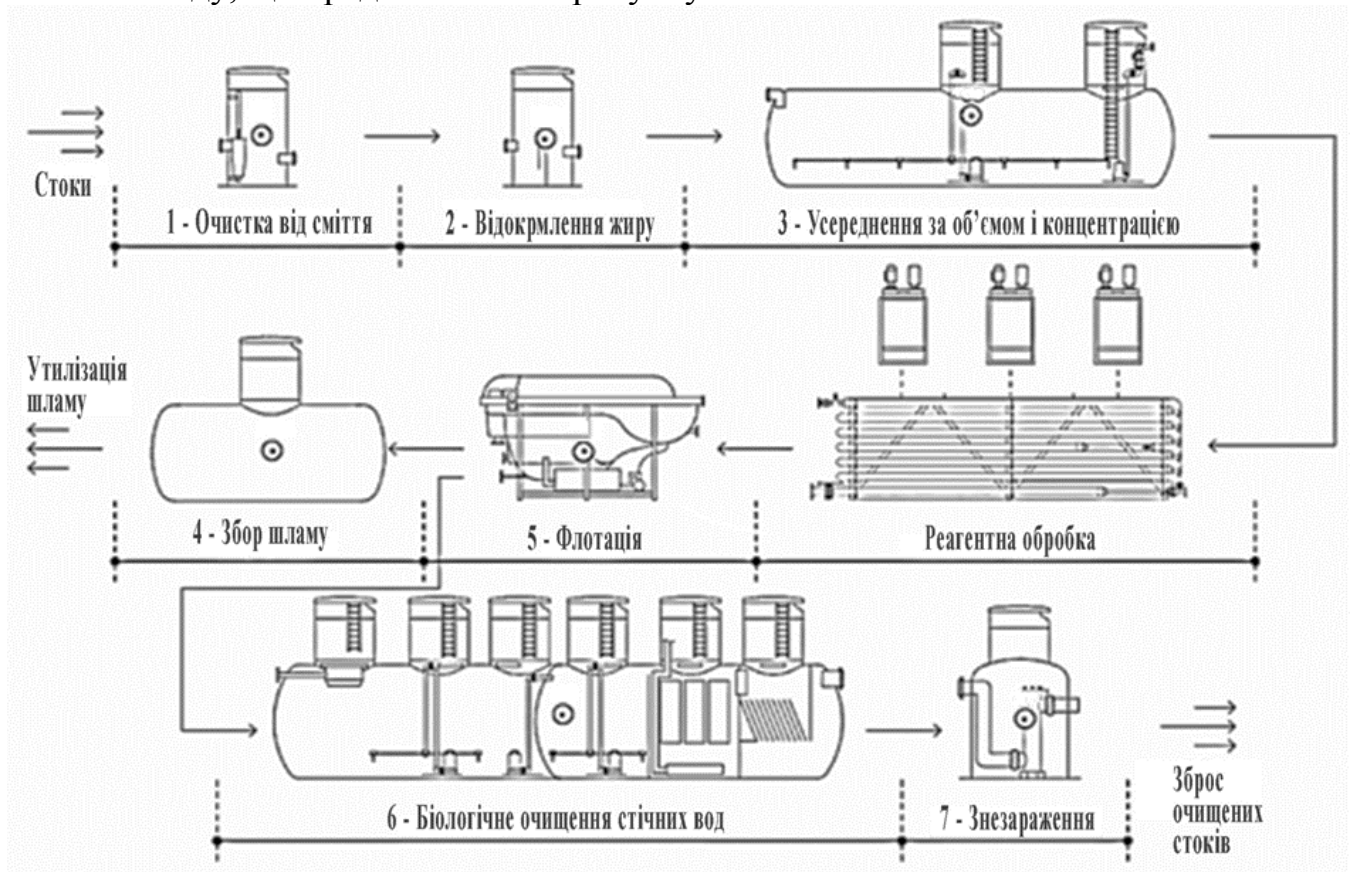


Рисунок 5.3 – Схема очисних споруд молокозаводів, запропонована групою компаній «Аргель»

1 – механічні решітки; 2 – жируловлювач; 3 – усереднювач; 4 – шламозбірник; 5 – флотатор; 6 – блок біологічного очищення; 7 – установка ультрафіолетового знезараження

Проходячи через решітки Векса-РМ, стік звільняється від великих відходів та грубодисперсних механічних домішок, що заважають подальшій роботі обладнання. Далі стічна вода поступає на жируловлювач, потрібний для відділення плаваючих жирових забруднень і має відстійну зону для осідання великих частинок під дією сил гравітації. Після цього стічні води надходять до усереднювача, де відбувається усереднення максимального та мінімального притоку стічних вод, що надходять на очищення. Також у ньому відбувається згладжування пікових концентрацій забруднюючих речовин за рахунок буферного об'єму та пристрою, що перемішує рідину. Піна з флотатора стікає в ємність-шламозбірник, звідки, після накопичення, відкачується та утилізується спецтранспортом.

Після реагентної обробки здійснюється очищення у флотаторі за рахунок реалізації процесу поділу забруднюючих речовин і стічної рідини за допомогою бульбашок повітря, що піднімаються на поверхню, захоплюючи за собою частинки забруднень в шар піни, що видаляється пристроєм для шламовидалення в ємність-шламозбірник. Після флотатора очищена вода може спрямовуватись в колектор міської системи каналізації.

Для забезпечення вимог нормативів ГДК в очищених стоках молокозаводу, що скидаються в природне водоймище, необхідно застосування технології біологічного очищення, яка реалізована в даному випадку в біореакторі Argel ВІО. У ньому, за рахунок створення особливих умов для розвитку різних форм і видів найпростіших і мікроорганізмів, йдуть процеси їхньої життєдіяльності; мікроорганізми споживають при цьому органічні речовини, присутні у стічній воді.

В установці ультрафіолетової дезінфекції Argel UV відбувається знезараження очищених стічних вод перед скиданням їх у природне водоймище.

Фінською фірмою «Гампелла» запропонована раціональна схема очистки стоків харчових і паперових заводів. Біореактор «Гаман» (рис. 5.4) сконструйовано з урахуванням можливості реалізації двостадійного процесу (кисла і метаногенна стадії), причому на метаногенній стадії застосовується гранулоподібний мул. Інтенсифікація метаноутворення забезпечується в результаті виносу із зони метаногенезу свіжого субстрату з важкими інгібіторами, а також наявністю в другій зоні великої маси метаноутворюючих бактерій. Обидві зони можуть бути розміщені в одному вертикальному циліндрі, який розділений горизонтальною перегородкою на верхню зону об'ємом 300 м<sup>3</sup> і нижню – 350 м<sup>3</sup>. Ця система очистки ефективно працює на заводі, який переробляє на рік 63 млн. л молока, виробляє 3000 т сиру, 2000 т масла, 1,2 тис. т паперу.

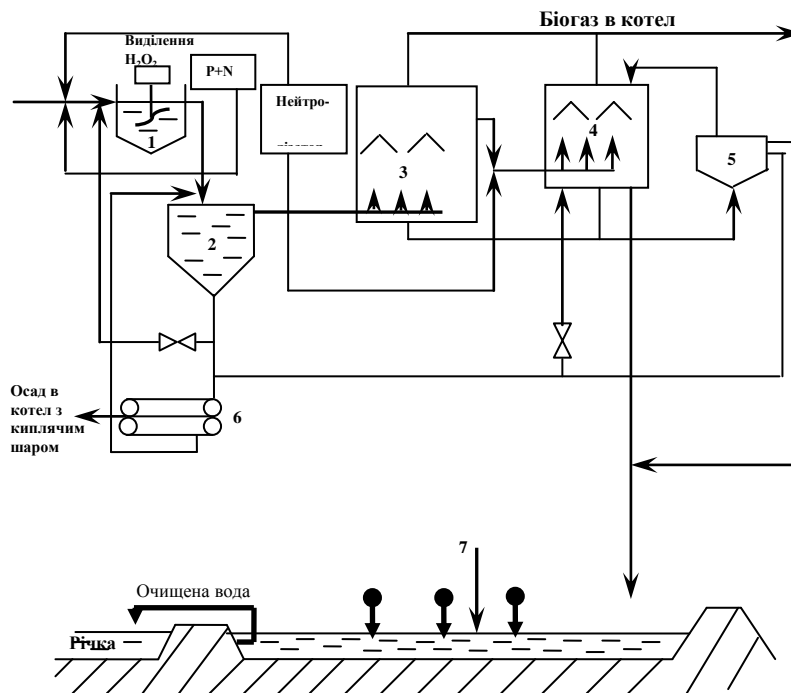


Рисунок 5.4 – Анаеробний двоступеневий біореактор «Таман» з наступною доочисткою стоків паперового заводу

1 – ємність для розбавлення стоків; 2 – первинний відстійник – пастка; 3 – метантенк для кислотного бродіння (I ступінь); 4 – метантенк для метаногенезу (II ступінь); 5 – вторинний відстійник; 6 – стрічковий фільтр-прес; 7 – аерований ставок

### ? Контрольні питання:

1. Охарактеризуйте основні хімічні та фізичні властивості молочної кислоти.
2. Яку роль відіграє молочна кислота в організмі людини?
3. Яка роль молочної кислоти в процесах сквашування, маринування, силосування, в інших процесах?
4. Як використовується молочна кислота в медицині та у виробництві антисептиків?
5. Яке застосування знайшли солі молочної кислоти – лактат кальцію та лактат натрію в народному господарстві та медицині?
6. Які вимоги висуваються до якості молочної кислоти харчового призначення?
7. Які штами молочнокислих бактерій застосовуються в промисловому виробництві молочної кислоти на харчовій сировині; на сульфітному лузі?
8. Який внесок В. Н. Шапошникова, А. Я. Мантейфеля та інших вчених у технологію виробництва молочної кислоти?
9. Дайте характеристику основних компонентів живильних середовищ із крохмалевмісної сировини для біосинтезу молочної кислоти.
10. Назвіть основні стадії біотехнології виробництва молочної кислоти або її солей на харчовій сировині.
11. Для чого в технології виробництва молочної кислоти застосовується жовта кров'яна сіль, хлорне вапно, активоване вугілля?



12. Опишіть виробництво сирів.
13. Бродіння міцного кефіру триває:
- а) 4 дні;
  - б) 3 дні;
  - в) 2 дні;
  - г) 5 днів.
14. До тваринних натуральних стабілізаторів належить:
- а) пектин;
  - б) камідь;
  - в) желатин;
  - г) агар.
15. Речовини, що вводять до складу молочних продуктів для зміцнення структури та надання стійкості під час зберігання, називаються:
- а) консерванти;
  - б) стабілізатори;
  - в) ароматизатори;
  - г) барвники.
16. Мезофіли живуть при температурі:
- а) 40-42 °С;
  - б) 16-20 °С;
  - в) 25-30 °С;
  - г) 12-14 °С.
17. До молочнокислих продуктів, що отримані в результаті чистого гомоферментативного молочнокислого бродіння, не належить:
- а) простокваша;
  - б) йогурт;
  - в) кефір;
  - г) кисляк.
18. В основі гомоферментативного бродіння лежить:
- а) гліколітичний цикл;
  - б) пентозофосфатний шлях;
  - в) цикл Кребса;
  - г) шлях Ентнера-Дудорова.
19. Специфічні молочнокислі бактерії роду *Bifidobacterium* живуть:
- а) на рослинах і рослинних залишках;
  - б) у сечовому міхурі людини та тварин;
  - в) у кишечнику немовлят;
  - г) на тваринних залишках.
20. Характерна ознака молочнокислих бактерій:
- а) здатність рости при рН 1-2;
  - б) потреба у факторах росту;
  - в) здатність рости при температурі 0-5 °С;
  - г) здатність рости тільки у середовищах, що містять глюкозу.
21. Молочнокислі бактерії здатні синтезувати речовини, що володіють:
- а) антиоксидантними властивостями;
  - б) прооксидантними властивостями;
  - в) ростостимулюючими властивостями;

г) антибіотичними властивостями.

22. Пропіонові бактерії використовують у промисловості для отримання:

- а) вітаміну В<sub>12</sub>;
- б) вітаміну С;
- в) вітаміну А;
- г) вітаміну Е.

## Заняття № 6

### Тема: АЕРОБНІ СИСТЕМИ ОЧИСТКИ СТОКІВ

**Мета:** сформуванати знання про аеробні методи та установки для очищення води, поглибити поняття про поверхнево активні речовини.

#### План

1. Схема аеробної очистки промислових та господарсько-побутових стоків.
2. Аератори.
3. Очистка стічних вод від поверхнево-активних речовин (ПАР).
4. Шляхи руйнації пірокатехіну.

**Основні терміни і поняття:** поверхнево-активні речовини, аератор, аеротенк.

У зв'язку з бурхливим розвитком промисловості та збільшенням чисельності населення міст різко зросла кількість різноманітних стічних вод, які є небезпечним джерелом забруднення довкілля. Хімічний склад стічних вод постійно змінюється, тому відбувається безперервне вдосконалення методів хімічного та біологічного очищення стічних вод. Методи біологічного очищення ґрунтуються на застосуванні активного мулу. Очисні споруди функціонують завдяки діяльності як аеробних, так і анаеробних мікроорганізмів (рис. 6.1).

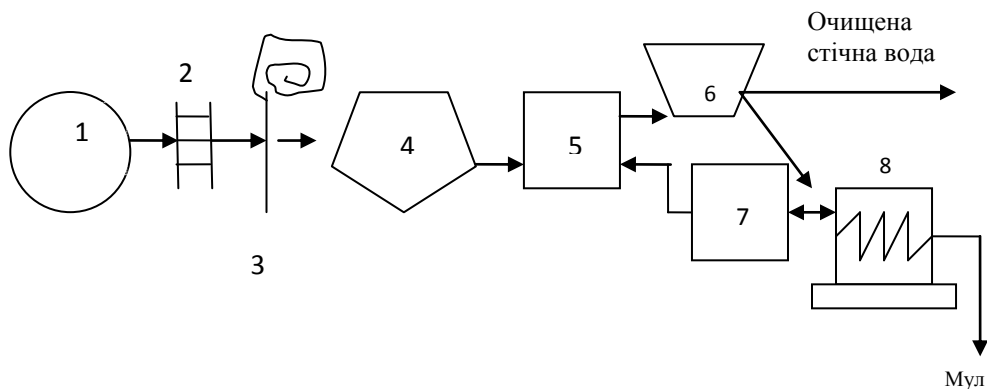


Рисунок 6.1 – Класична схема біологічної очистки міських очисних споруд  
1 – уереднювач; 2 – металева решітка (для матрасів і т.п.); 3 – пісколовка; 4 – відстійник (осідають крупнозернисті завислі речовини, 45-90 хв.); 5 – аеротенк; 6 – вторинний відстійник мулу (анаеробні умови, 45-80 хв.); 7 – регенератор мулу; 8 – ущільнювач мулу.

**Аеротенк** – споруда для біологічного очищення стічних вод. Становить собою систему проточних резервуарів з активною аерацією. В аеротенку відбувається інтенсивне окиснення органічних речовин мікроорганізмами активного мулу. Аеротенки вибирають з урахуванням специфіки стоків.

**Аеротенк коридорний.** Працює по принципу витіснення. Малої інтенсивності, відкритий. Має 4 коридори. Загальна довжина 100 м, ширина 25 м, висота 6 м. Процес очищення триває 1 добу (рис. 6.2).

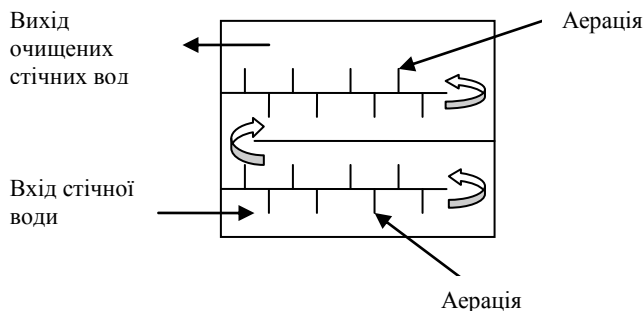


Рисунок 6.2 – Аеротенк коридорний

**Система Кессенера.** Це поверхневий аератор з обмеженою глибиною аерації відкритого типу. Масаобмін до 1,8 кг  $O_2$  на 1 кВт•год електроенергії. Складається з колеса з лопатями (здійснює перемішування та аерацію) та хвилерізу (відстоювання стічних вод) (рис. 6.3).

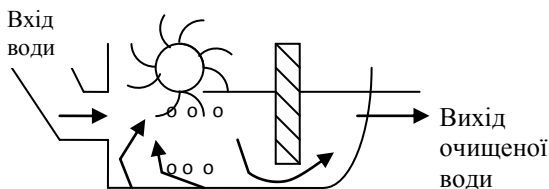


Рисунок 6.3 – Система Кессенера

**Система «Сімлекс».** Турбінний аератор, відкритий. Має центробіжне колесо, дифузор та конфузор. Масаобмін до 2,3 кг на  $O_2$  на 1 кВт•год (рис. 6.4).

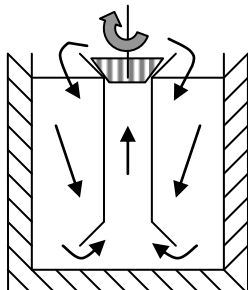


Рисунок 6.4 – Система «Сімлекс»

**Аератор з керамічними диспергаторами повітря – розпилювачами.** Представляє собою відкриту систему, у якій відбувається інтенсивна аерація (потрібен компенсатор) (рис. 6.5).

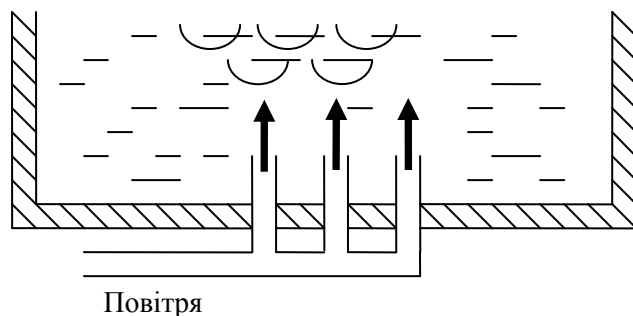


Рисунок 6.5 – Аератор з керамічними диспергаторами повітря – розпилювачами

**Колонний вежний або ерліфтний аератор.** Низька турбідізація середовища (потрібен компенсатор). Закритий, має 50–60 м заввишки. Енергозатрати малі – 0,5 кВт•год на 1 кг  $O_2$ . Очищує воду з поверхнево-активними речовинами. Має систему ерліфту (вода захвачує повітря) (рис. 6.6).

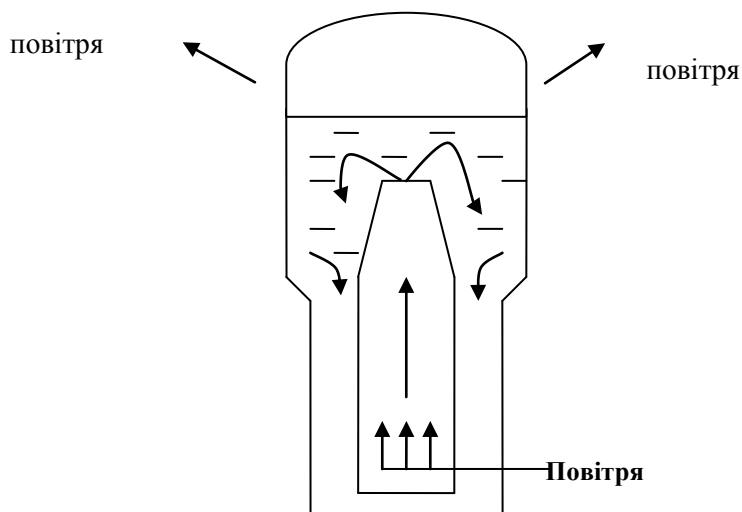


Рисунок 6.6 – Колонний вежний або ерліфтний аератор

**Інжекційний з рециркуляцією мулу та спалюванням органічних речовин, які знаходяться у відпрацьованому газі.** Інтенсивна аерація (потрібен компресор). Закритий. Очищує токсичні води, наприклад при виробництві ракетного палива (рис. 6.7).

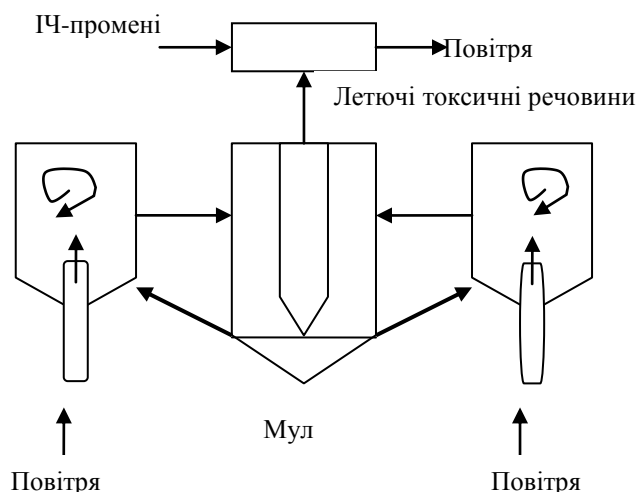


Рисунок 6.7 – Інжекційний з рециркуляцією мулу та спалюванням органічних речовин, які знаходяться у відпрацьованому газі

### Очистка стічних вод від поверхнево-активних речовин (ПАР)

У наш час ПАР широко застосовуються при добуванні нафти, в гірничорудній, текстильній, паперовій, фармацевтичній промисловості. У першу чергу, ПАР входять до складу синтетичних миючих засобів і потрапляють, перш за все, у воду. ПАР прийнято ділити на такі групи:

- іоногенні ПАР, які дисоціюють у воді на іони;
- неіоногенні ПАР (нПАР), розчинність яких обумовлена не дисоціацією, а утворенням водневих зв'язків між молекулами води і киснем ПАР.

Існують і природні ПАР неіоногенного характеру, але вони мало відомі і під «ПАР» зазвичай розуміють синтетичні ПАР. Іоногенні ПАР поділяються на:

- аніонні (аПАР);
- катіонні (кПАР);
- амфолітні або амфотерні (амПАР).

Аніонні ПАР дисоціюють з утворенням протиіону металу (наприклад, K, Na) та макроаніонів, які обумовлюють поверхневу активність сполук. У кПАР поверхневою активністю володіє макрокатион. Амфолітні ПАР ведуть себе в розчинах як амфотерні сполуки. У кислому середовищі, завдяки наявності аміногруп, вони дисоціюють як кПАР, а у лужному середовищі, за рахунок карбоксильних груп, вони розпадаються на іони аналогічно аПАР.

Найбільше розповсюдження отримали аПАР, а серед них більш широко застосовуються алкілсульфати, алкілсульфонати та алкіларилсульфанати. До першої групи відносяться також мило.

1. Алкілсульфати являють собою солі складних ефірів сірчаної кислоти і мають таку будову:  $R-CH_2-OSO_3-Me$ , де R – радикал, який найчастіше складається із 10–18 атомів вуглецю. На поверхневу активність ПАР впливає розгалуженість алкільного ланцюга, його довжина, положення сульфогруп.

2. Алкілсульфонати. Загальна формула:  $R-CH_2-SO_3-Me$  – солі сульфокислот, їх використовують як миючий засіб. Група  $SO_3-Me$  може

приєднуватися до будь-якого атома вуглецю в ланцюзі. Вони володіють менш вираженими миючими властивостями.

3. Алкіларилсульфонати найбільш розповсюджені, особливо алкілбензолсульфонати, загальна формула яких наведена на рисунку 6.8.

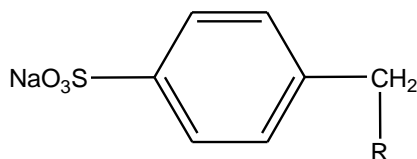


Рисунок 6.8 – Загальна формула алкілбензолсульфонатів

Їх отримують при алкілюванні бензолу з наступним сульфуванням. Крім бензолу, використовують також дифеніл і нафталін. У техніці широко відома речовина – некаль, що являє собою солі алкіл-замінних нафталін-сульфоокислот (рис. 6.9).

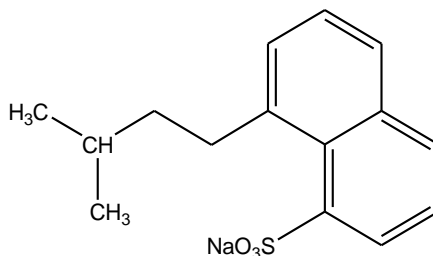


Рисунок 6.9 – Хімічна будова некалю

Властивості алкіларилсульфонатів залежать від природи ароматичної сполуки, від довжини і ступеню розгалуженості алкільного радикалу.

Адсорбція ПАР на поверхні мікробної клітини вважається першим етапом взаємодії мікроорганізмів з хімічними сполуками. Адсорбція посилюється в присутності двохвалентних катіонів, які знижують негативний заряд клітини. Найбільш досконало вивчена мікробна деструкція алкілбензолсульфонатів. Біорозкладання алкілбензолсульфонатів може відбуватися декількома шляхами в аеробних умовах (рис. 6.10).

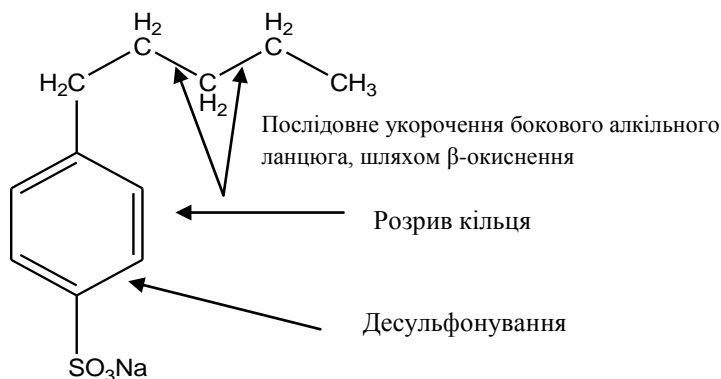


Рисунок 6.10 – Шляхи біорозкладання алкілбензолсульфонатів

Перетворення ароматичних ядер мікроорганізмами відбувається через стадію пірокатехіну, який в подальшому трансформується шляхом розриву ароматичного кільця (рис. 6.11).

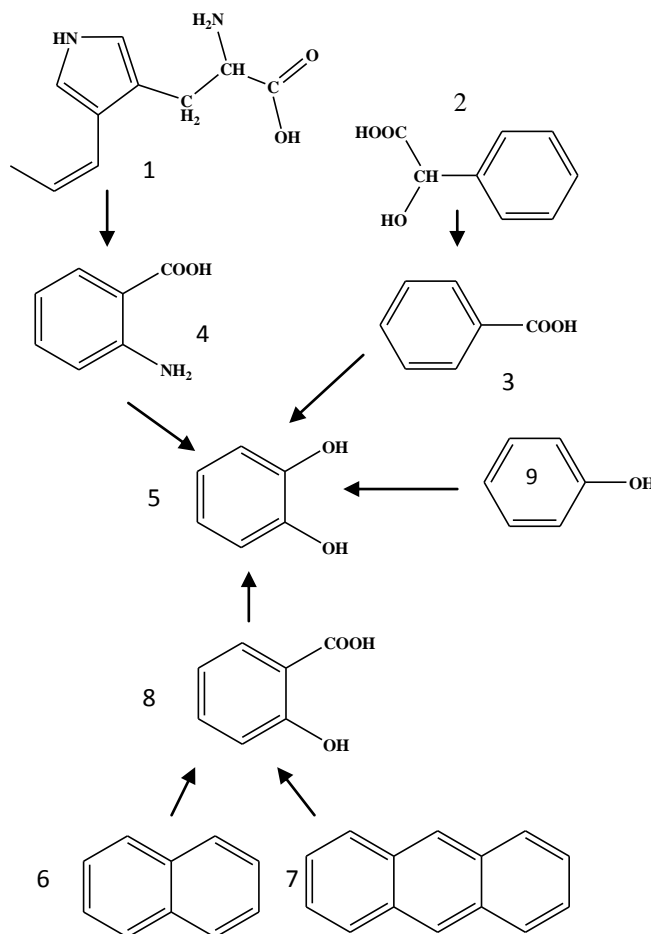


Рисунок 6.11 – Схема перетворення ароматичних ядер мікроорганізмами  
1 – триптофан; 2 – мигдальна кислота; 3 – бензойна кислота; 4 – антранілова кислота; 5 – пірокатехін; 6 – нафталін; 7 – антрацен; 8 – саліцилова кислота; 9 – фенол

Розрив кільця здійснюється за орто- або мета-шляхом (рис. 6.12, 6.13).

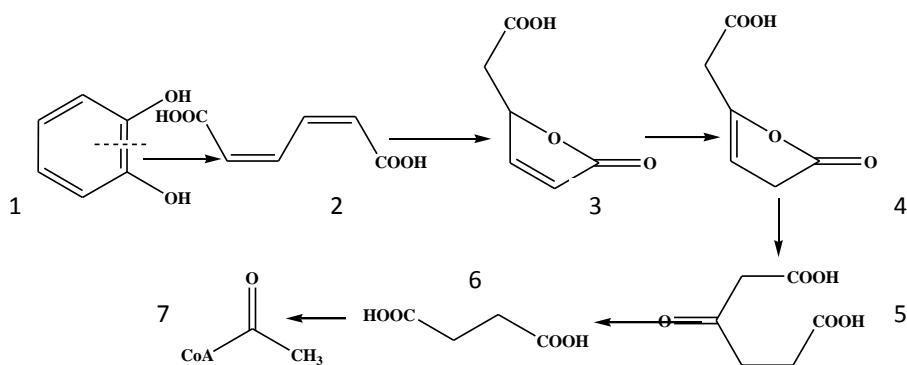


Рисунок 6.12 – Орто-розщеплення пірокатехіну ( $\beta$ -кетoadепіновий шлях)  
1 – пірокатехін; 2 – цис-муконова кислота; 3 – муконолактон; 4 – енолактон  $\beta$ -кетoadепінової кислоти; 5 –  $\beta$ -кетoadепінова кислота; 6 – бурштинова кислота; 7 – ацетил-КоА

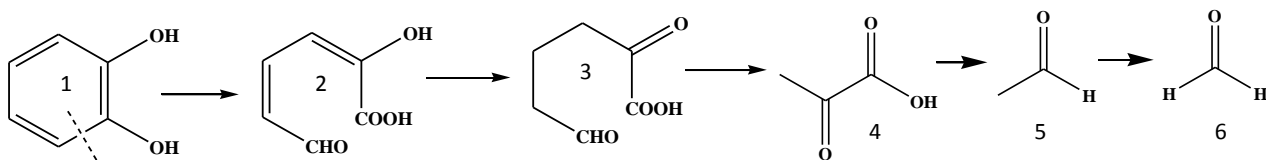


Рисунок 6.13 – Мета-розщеплення пірокатехіну

1 – пірокатехін; 2 – 2-гідроксимуконова кислота; 3 – кетоформа  $\alpha$ -оксимуконової кислоти; 4 – піровіноградна кислота; 5 – ацетальдегід; 6 – мурашина кислота

Основна маса мікроорганізмів розщеплює ароматичні ядра за орто-шляхом. ПАР слугують єдиним джерелом вуглецю. Процеси проходять в аеробних умовах. Швидкість руйнування залежить від концентрації речовини, від інтенсивності аерації, від природи самої речовини. Культури, які руйнують ПАРи: *Citrobacter freundii* (руйнує 1,0 г/л додецилсульфонату за 28 годин), *Pseudomonas. putida*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. stutzeri*, *Ps. mendosina*, *Achromobacter eurydice*.

При вивченні питань, пов'язаних з очисткою стічних вод від ПАР та інших ксенобіотиків, застосовують такі підходи:

- збагачують активний мул спеціально селекціонованими гетеротрофними бактеріями – деструкторами забруднень;
- використовують фотосинтезуючі бактерії для очистки води;
- вивчають деструкцію речовин, які забруднюють воду, чистими культурами мікроорганізмів та їх комплексами;
- здійснюють стимуляцію деструктивної активності мікроорганізмів шляхом внесення додаткового джерела живлення;
- вивчають можливість використання мікробних ферментів для очистки стічних вод.

Деструкція аніонних ПАР, яка призводить до втрати поверхневої активності, може відбуватися або шляхом відщеплення від молекули речовини гідрофільної групи, або в результаті послідовного окиснення алкільного радикалу. Відщеплення гідрофільної групи у синтетичних акілсульфатів, акілсульфонатів і акіларилсульфонатів здійснюється в результаті впливу ферментів сульфатаз. Алкілсульфатази, які розривають ефірний зв'язок у молекулі алкілсульфатів, відносяться до групи алієстераз, що гідролізують різноманітні аліфатичні ефіри і що характеризуються широкою субстратною специфічністю. Вивчено деякі властивості алкілсульфатаз: вони розщеплюють додецилсульфат з виділенням сульфату. Оптимальна температура, яка забезпечує високу активність цього ферменту, виявилася дуже високою (70 °C), а оптимальний рН дорівнює 7,5. Фосфат, арсенат і солі важких металів (Pb, Cu, Fe<sup>3+</sup>) пригнічують ензиматичну активність, а іони Mg і Mn – трохи стимулюють її.



Таким чином, ПАР руйнуються гетеротрофними грамнегативними паличкоподібними бактеріями роду *Pseudomonas* при відсутності інших джерел вуглецю в середовищі. В природних субстратах, де поряд з ПАРами завжди є й інші органічні сполуки, може також відбуватися процес ко-метаболізму, тобто розклад ПАР, пов'язаний з використанням субстратів росту. У присутності додаткових джерел вуглецю алкілсульфати руйнуються дріжджоподібними грибами, які не використовують ці речовини у відсутності ко-субстрату. На процес деструкції суттєво впливають температура середовища, рН, ступінь аерації. Велика кількість ПАР руйнується в анаеробних умовах.

### **? Контрольні питання:**

1. Які Ви знаєте методи очистки стічних вод?
2. Дайте характеристику аеробним методам мікробіологічної очистки стічних вод.
3. Що таке активний мул та біоплівка в спорудженнях аеробного очищення води?
4. Як очищують воду в аеротенках?
5. Як очищують воду в біофільтрах?
6. Охарактеризуйте процес нітрифікації.
7. Що таке процес денітрифікації?
8. Як відбувається аеробна стабілізація осаду?
9. Як очищують стічні води від ПАР?
10. Споруда для біологічного очищення стічних вод у вигляді системи проточних резервуарів з активною аерацією називається:
  - а) біофільтр;
  - б) аеротенк;
  - в) відстійник;
  - г) біорезервуар.
11. Колесо з лопатями та хвилеріз містяться у:
  - а) коридорному аеротенку;
  - б) системі Кессенера;
  - в) системі «Сімлекс»;
  - г) ерліфтному аераторі.
12. Яка з перелічених систем не належить до анаеробних реакторів для отримання метану та очистки стічних вод?
  - а) біореактор «киплячого шару»;
  - б) контактний біореактор;
  - в) замкнута безвідходна система Ямомото;
  - г) біореактор з шаром біомаси;
  - д) анаеробні лагуни.
13. Що треба враховувати при виборі аеротенку?
  - а) тривалість його використання;
  - б) умови довкілля;

- в) специфіку стоків;
  - г) розміри аеротенку.
14. До іоногенних ПАР не належать:
- а) аніонні (аПАР);
  - б) катіонні (кПАР);
  - в) амфолітні або амфотерні (амПАР).
  - г) неоіногенні (нПАР).
15. Основна маса мікроорганізмів розщеплює ароматичні ядра за:
- а) мета-шляхом;
  - б) пара-шляхом;
  - в) нано-шляхом;
  - г) орто-шляхом.
16. Систему ерліфту має:
- а) коридорний аеротенк;
  - б) система Кессенера;
  - в) система «Сімплекс»;
  - г) колонний вежний аератор.
17. Швидкість руйнування ПАР не залежить від:
- а) концентрації речовини;
  - б) інтенсивності аерації;
  - в) природи речовини;
  - г) наявності в середовищі іонів алюмінію;
  - д) рН;
  - ж) температури.
18. Оптимальна температура, яка забезпечує високу активність алкілсульфатази, становить:
- а) 70 °С;
  - б) 25-30 °С;
  - в) 35-40 °С;
  - г) 45-55 °С.
19. Стимулює активність алкілсульфатази:
- а) фосфат;
  - б) іони  $Mg^{2+}$  і  $Mn^{2+}$ ;

## Заняття № 7

### **Тема: АНАЕРОБНІ СИСТЕМИ ОЧИСТКИ СТОКІВ**

**Мета:** сформувати знання про анаеробні методи та установки для очищення води.

#### План

1. Біореактори.
2. Біофільтри.
3. Анаеробний двоступеневий процес «Таман».

**Основні терміни і поняття:** біофільтр, біореактор, метантенк, септиктенк.

До систем анаеробних реакторів для отримання метану та очистки стічних вод належать: анаеробні фільтри, метантенки, септиктенки (перегнивачі) та двох'ярусні відстійники (емшери або емшерські басейни).

**Традиційний біореактор метанового бродиння.** Це герметичні металеві або залізобетонні ємності у вигляді вертикальних циліндрів, в яких проходить повільне перемішування газом або механічною мішалкою. Повна заміна субстрату відбувається через 10–20 діб. Рециркуляція запобігає потраплянню слідових концентрацій кисню до метантенку зі стічними водами і біомасою, що подається на зброджування (рис. 7.1).

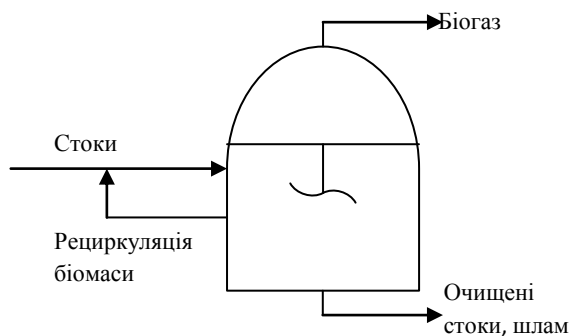


Рисунок 7.1 – Традиційний біореактор метанового бродиння

**Контактний біореактор** має механічну мішалку, яка здійснює повне перемішування в об'ємі реактора. Є відстійник – сепаратор біомаси, біомаса частково повертається до біореактора. Повна заміна субстрату відбувається через 5–15 діб (рис. 7.2).

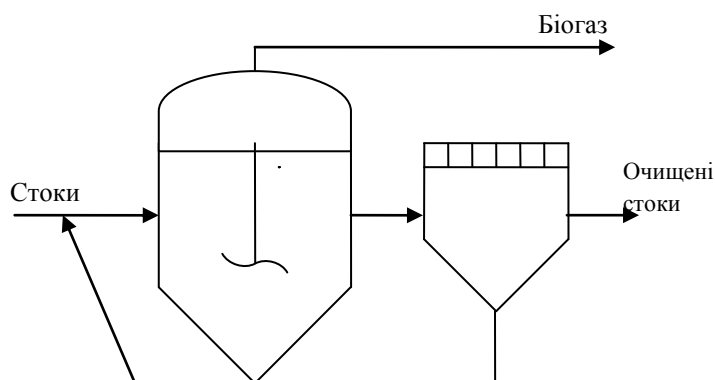


Рисунок 7.2 – Контактний біореактор

**Біореактор «киплячого шару»** являє собою циліндр. Стоки подаються знизу зі швидкістю, яка забезпечує утворення киплячого шару носія (піску, поліпінопласту) з біомасою (рис. 7.3).

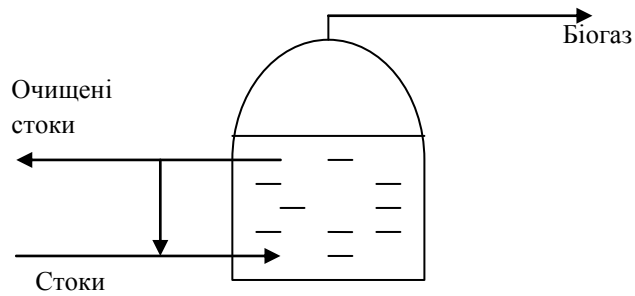


Рисунок 7.3 – Біореактор «киплячого шару»

**Анаеробний фільтр** являє собою вертикальний циліндр з насадкою твердого пористого носія, до якого прикріплюється анаеробна мікрофлора. Стоки подаються знизу або зверху через шари насадки (рис. 7.4).

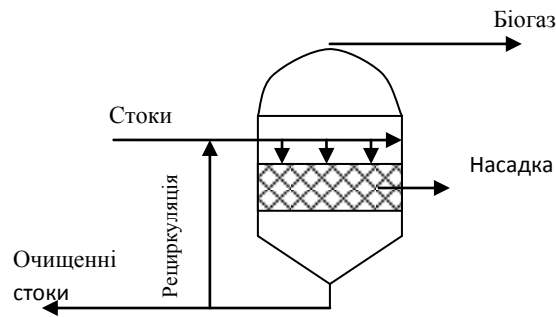


Рисунок 7.4 – Анаеробний фільтр

**Біореактор з шаром біомаси (активного мулу)**. Стічні води рівномірно розподіляються по площі нижчої частини реактора та направляються догори зі швидкістю, яка забезпечує утворення гранул біомаси пухкого шару; у верхній частині знаходиться пристрій для розподілу твердої, рідинної та газоподібної фракції (рис. 7.5).

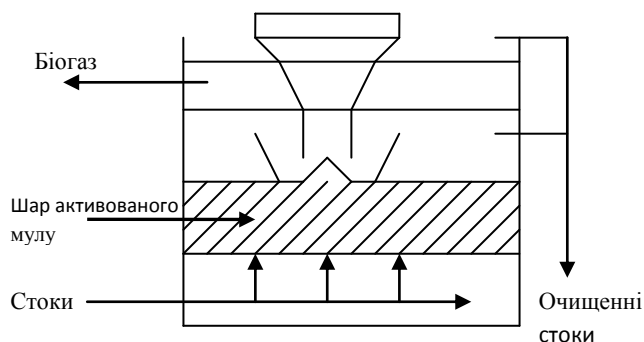


Рисунок 7.5 – Біореактор з шаром біомаси

**Двоступеневий біореактор.** Ферментаційний простір поділено на дві частини: у першій реалізується процес біодеструкції субстрату і кислотоутворення, а в другому – біогенез (рис. 7.6).

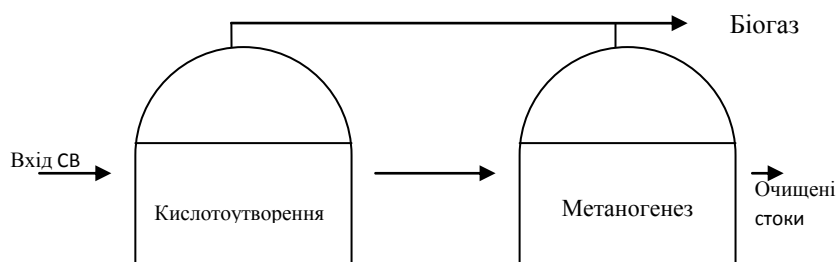


Рисунок 7.6 – Двоступеневий біореактор

**Анаеробні лагуни** – це система відстійників, в яких стоки знаходяться від декількох тижнів до 2 місяців, а гази вільно виділяються в атмосферу (рис. 7.8).

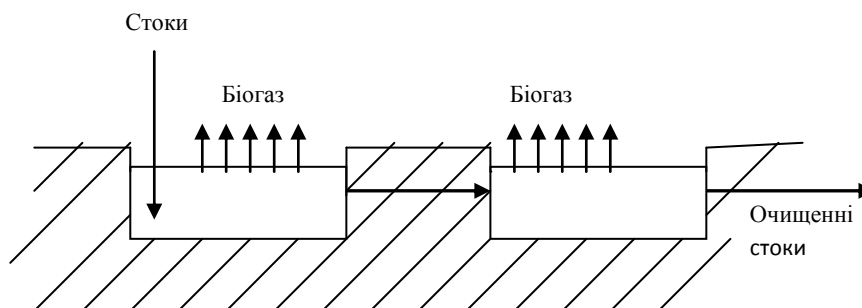


Рисунок 7.8 – Анаеробні лагуни

### ? Контрольні питання:

1. Назвіть анаеробні методи мікробіологічної очистки стічних вод.
2. Основні критерії очищення забруднених вод.
3. Дайте визначення завислих речовин, рН, колі-індекса.
4. Допустимий ступені забруднення водного об'єкту відповідає індекс забруднення:
  - а) 0;
  - б) 1;
  - в) 2;
  - г) 3.
5. Забруднення водного об'єкту розцінюється як надзвичайно високе при перевищенні ГДК речовин з токсикологічною лімітуючою ознакою шкідливості в:
  - а) 5 разів;
  - б) 10 разів;
  - в) 50 разів;

- г) 100 разів.
6. Типова технологія водоохорони передбачає:
- а) повну біологічну очистку;
  - б) повну біологічну очистку з доочисткою з одним ступенем;
  - в) повну біологічну очистку з доочисткою з двома ступенями.
7. До типової технології водоохорони не належать такі методи очистки міських стічних вод:
- а) повна біологічна очистка;
  - б) повна біологічна очистка з видаленням нітрогенвмісних забруднень;
  - в) повна біологічна очистка з видаленням фосфатвмісних забруднень;
  - г) повна біологічна очистка з доочисткою.
8. Нормативи гранично допустимого вмісту забруднюючих речовин для комунальних споруд повного біологічного очищення стічних вод наведені у:
- а) Правилах охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами;
  - б) СанПиНі 4630-88;
  - в) Водному кодексі України.
9. Передова технологія водоохорони передбачає:
- а) повне біологічне очищення з доочищенням;
  - б) адсорбцію;
  - в) йонний обмін;
  - г) повне біологічне очищення.
10. Найкраща технологія водоохорони передбачає:
- а) повне біологічне очищення з доочищенням і сорбцією;
  - б) повне біологічне очищення;
  - в) повне біологічне очищення з доочищенням;
  - г) повне біологічне очищення з сорбцією.
11. Типова технологія водоохорони може забезпечити мінімальну ступінь очищення стічних вод від завислих речовин до:
- а) 95 %;
  - б) 97 %;
  - в) 99 %;
  - г) 100 %.
12. Мінеральний состав стічних вод змінюється в процесі очищення їх за технологією:
- а) типовою;
  - б) передовою;
  - в) найкращою.
13. В каналізаційну мережу населеного пункту у складі промислових стічних вод забороняється скидати все, окрім:
- а) кислот;
  - б) горючих домішок;
  - в) розчинників;
  - г) горючих домішок і розчинників;
  - д) шкідливих речовин на рівні ГДК.

**Тема: НАЙНОВІТНІША СИСТЕМА БІОЛОГІЧНОЇ ОЧИСТКИ ВОДИ – БІОКОНВЕЄР**

**Мета:** сформувати знання про сучасну систему біологічної очистки води – біоконвеєр.

План

1. Будова аеротенка.
2. Склад активованого мулу.
3. Біоконвеєр.

**Основні терміни і поняття:** аеротенк, біоконвеєр, активований мул.

Основним всесвітньо поширеним традиційним методом біологічного очищення стічних вод є обробка їх в аеротенках. У відповідності з типовою технологічною схемою стічна вода після ретельного механічного очищення від різноманітного сміття, піску, жиру, інших дисперсних домішок, що осідають чи спливають у полі земного тяжіння, потрапляє у вузьку (3–11 м), глибоку (4–6 м) і довгу (30–400 м) споруду – аеротенк, де за постійної аерації очищається складним гідробіоценозом – активованим мулом. Після тривалої (6–24 і навіть більше годин) обробки стічна вода надходить у вторинний відстійник, в якому звільняється від активованого мулу, а потім потрапляє на доочищення (іноді після хлорування) у проміжні водойми (ставки) і, нарешті, у річку. Частина активованого мулу, що осідає у вторинному відстійнику, повертають до біологічної очисної споруди – аеротенку. Складну для розв'язання еколого-технологічну проблему створює за такої технології надлишковий мул: його дуже багато і він містить небезпечні віріони, мікроорганізми, яйця гельмінтів тощо, а також іони важких металів, біологічно стійкі, токсичні і навіть мутагенні сполуки.

Активований мул на 95 і більше відсотків складається з прокаріотів, здебільшого бактерій, і тільки менше 5% біомаси мулу становлять найпростіші. Складніші за своєю структурною організацією гідробіонти в активованому мулі трапляються дуже рідко, бо вони не мають шансів вижити у такій токсичній рідині, якою є сучасні (навіть побутові) стічні води. Адже останні містять ксенобіотики, а також токсичні продукти, що утворюються під час руху стоків довгими каналізаційними колекторами до очисних споруд.

Постійне погіршення хімічного складу стоків і водночас закономірне підвищення вимог до якості очищеної води диктує необхідність створення нових методів біологічної обробки води.

Саме такий метод вдалося нам розробити в Інституті колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України завдяки принципово новому підходу до проблеми біологічного очищення води. Метод дістав назву «біоконвеєр».

Необхідно розрізняти два етапи в біологічному очищенні води: перший – очищення від речовин-забруднювачів (органічних, неорганічних розчинених у ній сполук) і другий – очищення води від істот-забруднювачів (біологічних об'єктів, головним чином мікроорганізмів).

Дві ідеї лежать в основі сучасного біологічного очищення води: просторова сукцесія мікроорганізмів-деструкторів (на етапі очищення води від розчинених у ній хімічних речовин) і розділений у просторі трофічний ланцюг водних організмів – від найпростіших до моллюсків і риб (на етапі очищення води від мікроорганізмів).

З ідеї про просторову сукцесію мікроорганізмів-деструкторів і гідробіонтів випливає один за одним ряд практично важливих висновків:

1. Система біологічного очищення стічних вод повинна бути прямоточною, без будь-якого повернення біомаси в голову споруди.

2. Забезпечити прямоточність – при такій колосальній різниці між швидкістю росту мікроорганізмів і швидкістю розбавлення стічною водою – можна лише за умови утримування мікроорганізмів в об'ємі біореактора. А це, у свою чергу, можна зробити, тільки закріпивши, іммобілізувавши мікроорганізмів-деструкторів на нерозчинних у воді носіях.

3. Пошук мікроорганізмів потрібно здійснювати за двома показниками – деструктивними і адгезійними властивостями (так звана «подвійна селекція»), просторова сукцесія передбачає використання не однієї, а цілого ряду культур, навіть ряду асоціацій мікроорганізмів.

4. Потрібно створювати максимально можливу концентрацію мікроорганізмів-деструкторів у всьому об'ємі біореактора, носій для іммобілізації мікроорганізмів повинен бути не тільки міцним, технологічним, стійким до дії мікроорганізмів, він не повинен бути інертним, а активним, діючим, наприклад, джерелом відсутніх елементів (азоту, фосфору, калію та інших) та по можливості брати участь в окисно-відновних реакціях, бути донором-акцептором електронів.

5. Необхідно забезпечити умови для оптимальної роботи мікроорганізмів-деструкторів і асоціатів у біореакторі (очисній споруді), використовувати такий потужний і ефективний фактор як чергування аеробних і анаеробних процесів.

6. Глибоке очищення стічних вод від органічних забруднень може бути досягнене тільки за використання на останніх стадіях мікробного процесу оліготрофних бактерій, тому що саме вони пристосовані харчуватися за рахунок органічних речовин у низьких, мізерних концентраціях. Для повного надійного очищення води просторова сукцесія мікроорганізмів-деструкторів повинна переходити у трофічний ланцюг вищих форм водних організмів, де надлишок бактерій виїдали б найпростіші, надлишок найпростіших – членистоногі, цих – риби, щоби врешті решт одним «забрудненням» води стали риби.



Біологічне очищення води стоїть на порозі радикальних змін, які, поза сумнівом, торкнуться не тільки очищення промислових, а й так званих «побутових» стічних вод.

Ілюстрацією вищенаведеному може слугувати практична реалізація досліджень відділу мікробіології очищення води ІКХХВ, який провів на низці підприємств дослідно-промислово перевірку розроблених їм біотехнологій очищення промислових стічних вод. Різні за складом забруднень, такі, що мають аліфатичні та ароматичні аміни, аніонні та неіоногенні ПАР, нітропродукти, метанол, етиленгліколи, пентаеритрит та інші, ці води мають те спільне, що їх неможливо очистити сучасними методами, та їх спалюють або закачують у підземні горизонти для захоронення. Прикріплені до нерозчинних у воді носіїв анаеробні та аеробні мікроорганізми – деструктори ксенобіотиків здатні знешкодити також стічні води, що продемонстровано в промислових масштабах на дослідно-промисловій установці з мікробного очищення від гексаметилендіаміну так званої «мертвої води», яка утворюється при виробництві хімічного волокна анід, і на заводі тонкого органічного синтезу впродовж трьох літ діє промислова установка з очищення води від іоногенних ПАР у високих (~10 г/л) концентраціях; також здійснюється мікробне очищення води від нітросполук та інших ксенобіотиків. Устаткування напрочуд просте, малогабаритне, екологічно нешкідливе, призводить до серйозної економії палива».

Усе це дало змогу створити і реалізувати на практиці новітні біотехнології очищення промислових і побутових стічних вод, а також зливових і природних вод у біоконвеєрі (рис. 8.1).

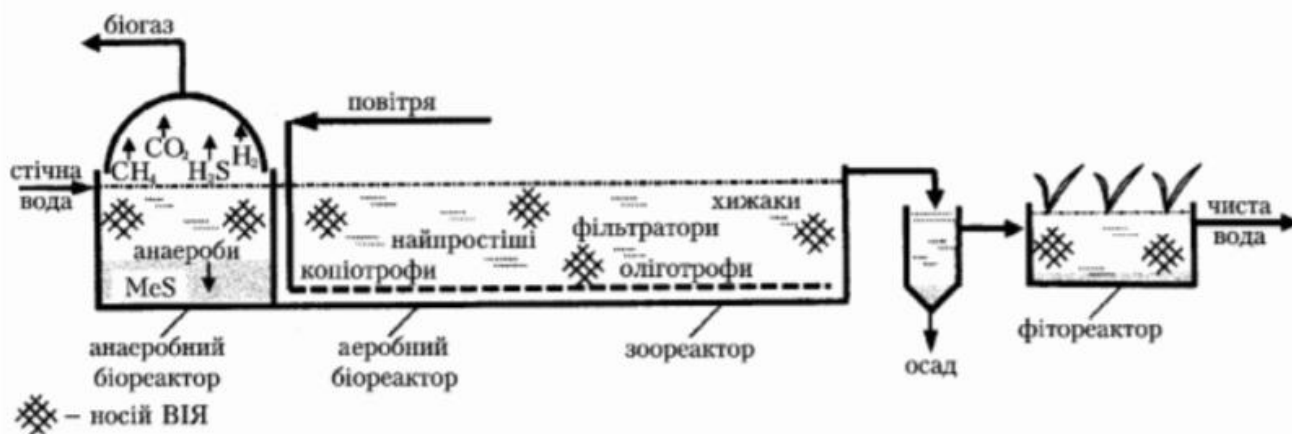


Рисунок 8.1 – Біоконвеєр

Технологічна суть біоконвеєра полягає в тому, що на шляху води, яку потрібно очистити, розміщені гідробіонти – анаеробні бактерії, аеробні мікроорганізми (копіотрофи, оліготрофи, найпростіші), фільтратори, хижакі. Перебуваючи на своїх «робочих місцях», вони «видають» з води розчинені у ній органічні сполуки і біомасу (тіла) організмів. У результаті маємо чисту воду і в сотні разів меншу надлишкову біомасу, утилізація якої, нагадаємо, в

традиційному біологічному процесі очищення води становить дуже важку для розв'язання проблему.

Особливо цінно, що у біоконвеєрі, на відміну від біологічного очищення води зі зворотним активованим мулом, немає насилля над гідробіонтами: тут ніхто не змушує їх жити там, де їм не подобається, і кожен гідробіонт у запропонованій системі біологічного очищення води вільний у своєму виборі місця проживання. Це дуже важливо, оскільки тільки вільний організм працює з максимальною продуктивністю.

Біоконвеєр не має головних недоліків традиційного біологічного очищення води. По-перше, біоконвеєром можна очищати будь-які (природні, зливові, побутові, промислові стічні) води, що містять розчинені органічні сполуки, навіть гранично токсичні, канцерогенні чи мутагенні, за будь-яких їх концентрацій. По-друге, біоконвеєр дає змогу доводити якість очищеної води до бажаного, заданого ступеня чистоти. По-третє, він знімає проблему надлишкової біомаси, бо вона споживається і мінералізується у трофічному ланцюгу. Причому, що більша кількість трофічних рівнів задіяна у біоконвеєрі, то менше біомаси залишається в очищеній воді. Досить мати в очисній споруді трофічний ланцюг у 2–3 ланки, щоб зменшити кількість надлишкової біомаси у 100–1000 разів! Для цього під час біологічного очищення води потрібно використовувати не тільки прокариотів, як це переважно відбувається при застосуванні активованого мулу, а й весь існуючий у сучасній біосфері арсенал еукаріотів – фільтраторів і хижаків різних трофічних рівнів. Тобто тут «працює» не тільки горизонтальна, а й «вертикальна» складова еволюційного процесу (рис. 8.2).

Склад активованого мулу можна порівняти з біотою, яка існувала на Землі в докембрійський період. Тодішній біоценоз був самодостатнім і міг у принципі забезпечити кругообіг елементів у природі. У цьому біоценозі мали бути одночасно такі мікроорганізми, які створювали послідовний ряд, де метаболіт (продукт) 1 мікроорганізму 1 слугував би субстратом організму 2, а продукт метаболізму організму 2 споживався б мікроорганізмом 3 і так далі, доки всі метаболіти не розклалися б повністю до  $H_2O$  і летких речовин ( $CO_2$ ,  $H_2S$ ,  $NH_3$ ,  $N_2$  та ін.) або до нерозчинних у воді хімічних сполук ( $MeS$ ,  $CaSO_4$ ,  $FePO_4$  тощо), які залишили б воду у вигляді газів чи осадів. Інакше розчинні метаболіти пригнічували б організми, котрі їх виділяють, і цикл кругообігу біогенних елементів у біосфері не був би замкненим.

Цей ланцюг перетворень назвали «горизонтальною складовою» еволюції. Попри її самодостатність вона мала дуже істотний недолік, що став неабияким благом для сучасного суспільства: в результаті функціонування «горизонтальної складової» у біосфері накопичилася величезна біомаса мікроорганізмів, акумулюючи в собі колосальну кількість вуглецю та інших біогенів і вилучаючи їх з кругообігу в природі. Виникла, здавалося б, безвихідна ситуація: біосфера загнала себе у глухий кут. Але життя знайшло

елегантний вихід у вигляді біохімічного процесу, який одержав назву «автоліз» – ензиматичне самознищення, розклад біологічних структур кожного організму.

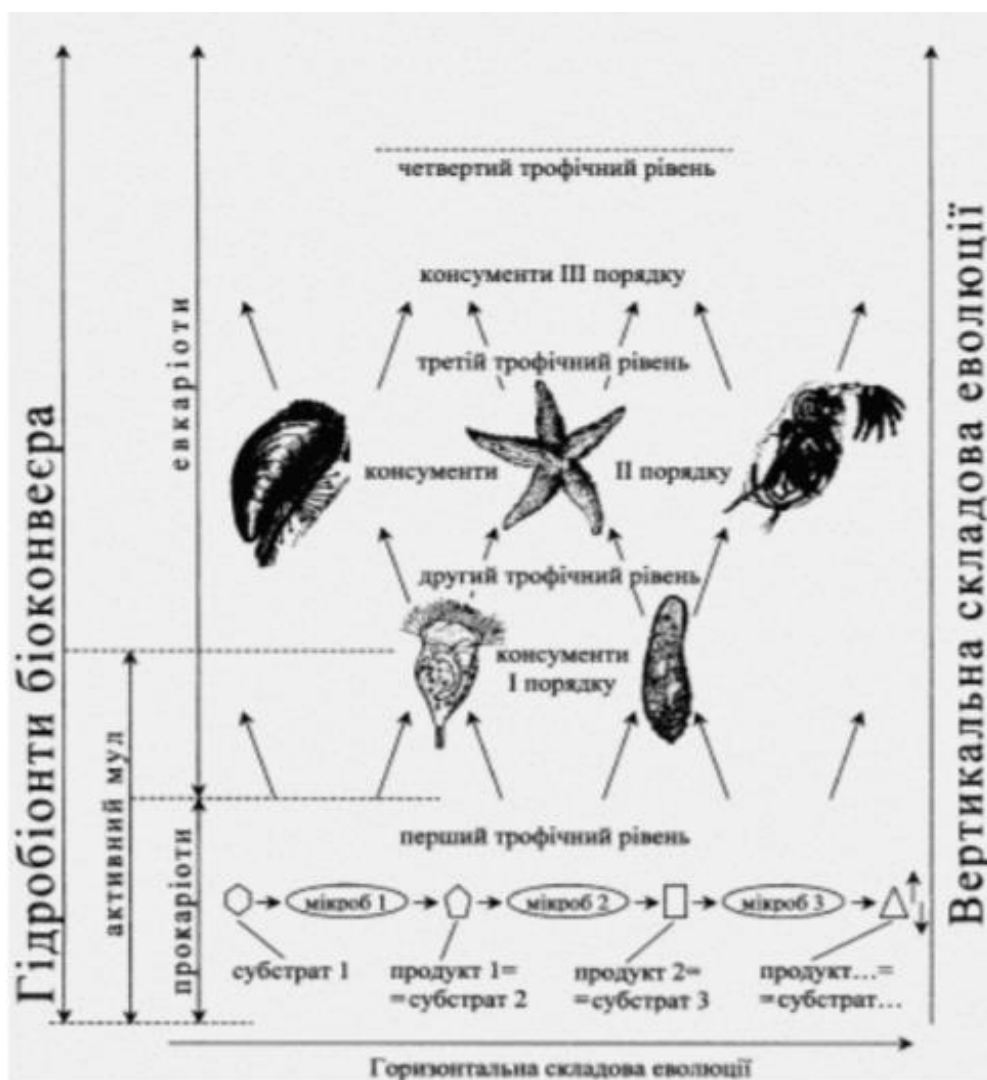


Рисунок 8.2 – Біологічне очищення води і еволюція

Однак автоліз – дуже повільний процес, і за швидкістю його не можна порівняти з процесами біосинтезу, розмноження організмів, наростання їх біомаси. Тож перш ніж досягти автолізу, біомаса мікроорганізмів «горизонтальної складової» еволюції встигала осісти разом з осадовими породами на дно водойм, ущільнитись там і надійно відгородитися мінеральними осадовими породами від решти біосферного світу. Саме з цих «надлишкових біомас» і виникли поклади нафти, газу, залізних і марганцевих руд, фосфоритів та інших дуже корисних копалин.

Поява евкаріотів і утворення «вертикальної складової» еволюції різко прискорили кругообіг елементів у біосфері, і нині в природі фактично не спостерігається помітного накопичення біомаси будь-яких організмів, бо кожен

з них стає поживою у трофічних ланцюгах і сітках фільтраторів, хижаків, паразитів, деструкторів.

Отже, для того, щоб за біологічного очищення води не створювалася надлишкова біомаса, потрібно залучати до цього процесу «вертикальну складову еволюції» – вищі форми гідробіонтів.

У біотехнології очищення води доводиться виходити з того, що існує стічна вода, в якій присутні різні, у тому числі (а то й переважно) непередбачувані забруднення – іони важких металів, природні і синтетичні органічні сполуки, словом, не тільки вся таблиця Менделєєва, а й значна частина багатотомного довідника Бальштейна (рис. 8.3). Вода ця (особливо промислові стоки) то гаряча, то холодна, то кисла, то лужна, причому завжди щедро контамінована різноманітними хімічними сполуками та біологічними об'єктами. І ось з цієї суміші, склад і кількість якої постійно змінюється, потрібно в результаті біологічного процесу одержати чисту воду. Воду і більше нічого – жодних органічних метаболітів, біомаси, іонів важких металів. А оскільки перетворити весь цей бруд, що міститься у стічних водах, на  $H_2O$  неможливо навіть теоретично, то біотехнологія очищення води передбачає трансформування інших елементів, крім водню і кисню, у нерозчинні у воді речовини, які переходять у повітря або випадають в осад.

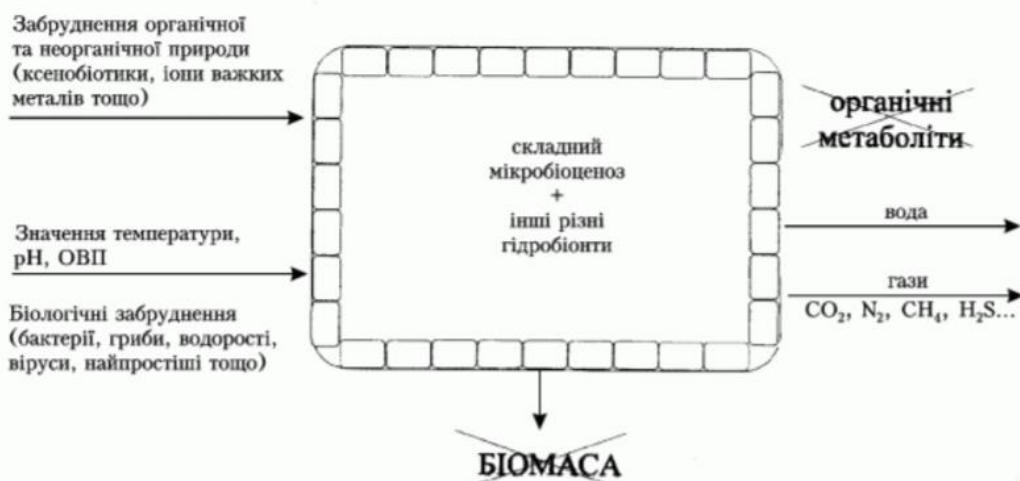


Рисунок 8.3 – Біотехнологія очищення води

Зрозуміло, що неможливо селекціонувати чи створити такий організм, такий штам, який би всі ці забруднення споживав без залишку та ще й свою власну біомасу перетравлював, виділяючи тільки воду і гази. Такого організму ніколи не було, немає і не буде. Одним мікробом, навіть найкращим, стічну воду добре очистити неможливо. У біосфері для постійного і надійного відновлення якості води існує надзвичайно велике розмаїття організмів – складні гідробіоценози. Отже, і для індустріального очищення стічних вод необхідно використовувати не тільки окремі штами мікроорганізмів – деструкторів тих чи інших органічних речовин, не тільки конгломерат прокаріотів – активований мул, а й максимальну кількість (в ідеалі – всіх)

існуючих у природі гідробіонтів. Саме це й передбачає запропонований біоконвеєр. Біоконвеєр – економічно вигідна і екологічно раціональна біотехнологія води. За принципом біоконвеєра вже працюють сотні очисних споруд – нових і реконструйованих – з очищення промислових і побутових стоків, а також зливових і природних вод.

**? Контрольні питання:**

1. Що таке активований мул? Які організми входять до складу активованого мулу?
2. Які структурні компоненти входять до складу класичного аеротенку?
3. Що таке гідробіонти?
4. Які 2 ідеї лежать в основі сучасного методу очищення води «біоконвеєр»?
5. Назвіть основні компоненти схеми «біоконвеєр».
6. Що таке аеротенк?
7. Які етапи проходить процес біологічного очищення води в аеротенках?
8. Які 4 висновки випливають з ідеї про просторову сукцесію мікроорганізмів-деструкторів?

## ГЛОСАРІЙ

**Аератор** – технічний пристрій для насичення води киснем.

**Аеротенк** – споруда для біологічного очищення стічних вод. Становить собою систему проточних резервуарів з активною аерацією. В аеротенку відбувається інтенсивне окиснення органічних речовин мікроорганізмами активного мулу.

**Активний мул** – спільнота мікроорганізмів, основну частину якої складають бактерії. У незначній кількості присутні найпростіші. Використовується у аеротенках.

**Алостеричні ферменти** – чуйно (тонко) реагують на концентрацію кінцевих продуктів метаболізму.

**Ацидогенез** – кислотогенна стадія метаногенезу.

**Білково-вітамінний концентрат** – кормові препарати з мікробної біомаси.

**Біоагент** – будь-який живий організм (неклітинний, одно- чи багатоклітинний або його компоненти чи продукти метаболізму), що забезпечує перетворення субстрату (сировини) на цільовий продукт певної біотехнології.

**Біогаз** – різновид біопалива, який утворюється при мікробіологічному розкладанні метановим угрупованням біомаси чи біовідходів, твердих і рідких органічних відходів (на звалищах, болотах, каналізації, вигрібних ямах тощо).

**Біодеградація (біорозклад)** – процес руйнування органічних сполук ферментами біоагента.

**Біоетанол** – етиловий спирт, який отримують із біомаси шляхом спиртового бродіння органічних продуктів, що містять вуглеводи, під дією ферментних систем дріжджів і бактерій. Як моторне паливо використовується у вигляді присадок або у чистому вигляді.

**Біоконверсія** – перетворення однієї хімічної сполуки в інше живими організмами (відрізняється від обробки ферментами, фіксованими клітинами або дії хімічних процесів).

**Біореактор** – пристрій, що здійснює перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу. Розрізняють механічні, аерліфтний і газо-вихрові біореактори.

**Біотехнологія** – це свідоме виробництво необхідних людині продуктів і матеріалів за допомогою біологічних об'єктів і процесів.

**Біофільтр** – споруда для біологічного очищення стічних вод шляхом пропускання їх через пористі матеріали, поверхня яких заселена мікроорганізмами, мінералізуючими органічні речовини.

**Гідролітичні бактерії** – функціональна група бактерій, що гідролізує макромолекули до розчинних продуктів, які можуть бути перетворені в низькомолекулярні органічні сполуки

**Екзоферменти** – ферменти, що виділяються в навколишнє середовище.

**Екологічна біотехнологія (природоохоронна біотехнологія)** – розділ біотехнології, що займається вирішенням екологічних проблем біотехнологічними методами.

**Ендоферменти** – ферменти всередині клітини.

**Індуцибельні ферменти** – швидкість їх синтезу в клітині різко зростає у відповідь на появу в середовищі субстрату-індуктора.

**Конститутивні ферменти** – їх синтез відбувається з постійною швидкістю незалежно від речовини субстрату; у клітині вони знаходяться в більш-менш постійній концентрації.

**Мікробіологія** – біологічна наука, яка вивчає будову та життєдіяльність найпоширенішої групи живих організмів, невидимих для неозброєного ока.

**Меляса (патока кормова)** – побічний продукт бурякоцукрового виробництва, густа брунатна рідина, що залишається після переробки цукрових буряків та цукрової тростини як відходи виробництва цукру.

**Метанове бродіння (зброджування)** – безкиснева біологічна конверсія органічної речовини в біогаз, який складається в основному із метану і вуглекислоти.

**Метанові бактерії** – це особлива група бактерій, які відрізняються дуже низькою швидкістю росту, надзвичайно чутливі до умов навколишнього середовища і вимагають перш за все відсутності в середовищі розчиненого кисню та інших окиснювачів.

**Метантенк (метантанк)** – штучний резервуар великої ємності (до декількох тис. м<sup>3</sup>) для біологічної переробки (так званого метанового зброджування за допомогою бактерій-мінералізаторів та інших мікроорганізмів) органічного осаду стічних вод без доступу повітря.

**Молочнокислі бактерії** – фізіологічна група хемоорганогетеротрофних, неспороутворювальних, нерухомих, факультативно анаеробних мікроорганізмів, збудників молочнокислого бродіння. У результаті зброджування цукрів (глюкоза, фруктоза, маноза, сахароза, лактоза, мальтоза та ін.) утворюють молочну кислоту (гомоферментативне бродіння) або молочну, оцтову кислоти, етанол, СО<sub>2</sub> (гетероферментативне бродіння).

**Молочнокисле бродіння** – процес анаеробного окиснення вуглеводів, кінцевим продуктом при якому виступає молочна кислота.

**Окситенк** – споруда для біологічного очищення стічних вод (переважно від розчинених органічних речовин) за допомогою аеробних бактерій з використанням кисню.

**Поверхнево-активні речовини** – хімічні речовини, які знижують поверхневий натяг рідини, полегшуючи розтікання, у тому числі знижуючи поверхневий натяг на межі двох рідин.

**Поля фільтрації (поля аерації)** – ділянка землі, на поверхні якої розподіляють каналізаційні та інші стічні води з метою їх очищення; різновид водоочисної споруди.

**Пребіотики** – препарати, в яких містяться продукти життєдіяльності мікроорганізмів-антагоністів патогенів.

**Премікси** – комплекс спеціальних домішок із фізіологічно активних речовин для підвищення повноцінності кормів для тварин.

**Пробіотики** – лікувальні препарати, що містять живі культури мікроорганізмів, які є представниками нормальної мікрофлори людини, та призначені для профілактики і лікування дисбіозів, для стабілізації та корекції аутофлори людини та тварин.

**Промислова мікробіологія** – наука, що вивчає мікроорганізми, які використовуються у виробництві антибіотиків, спиртів, вітамінів, ферментів, харчових продуктів, та розробляє методи захисту матеріалів, вживаних у промисловості, від руйнуючих дій мікроорганізмів.

**Септик** – це елемент локальної очисної споруди, застосовується на стадії проектування та будівництва комплексних систем локальної очистки побутових і господарських стічних вод. Септик, як такий, не є закінченою очисною спорудою і застосовується згідно з діючими нормами і правилами. При роботі очисної споруди необхідно використання методів ґрунтового доочищення.



## ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Пляцук Л. Д., Черниш Є. Ю. Екологічна біотехнологія: принципи створення біотехнологічних виробництв : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2018. 293 с.
2. Сакур О. А., Пасенко А. В. Методичні вказівки щодо виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Основи екологічної біотехнології» для студентів денної форми навчання зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Кременчук : КНУ ім. М. Остроградського, 2018. 36 с.
3. Дігтяр С. В., Єлізаров М. О., Мазницька О. В., Никифорова О. О., Новохатько О. В., Пасенко А. В., Сакур О. А. Галузі сучасної біотехнології : підручник для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Кременчук : ПП Щербатих О.В., 2021. 184 с.
4. Петруша Ю. Ю., Рильський О. Ф. Промислова мікробіологія : навчальний посібник для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня «бакалавр» напряму підготовки «Хімія». Запоріжжя: ЗНУ, 2015. 93 с.
5. Герасименко В. Г., Герасименко М. О., Цвіліховський М. І. Біотехнологія : підручник. Київ : Фірма «ІНКОС», 2006. 647 с.
6. Андронов В. А., Макаров Є. О., Данченко Ю. М., Обіженко Т. М. Дослідження закономірностей формування та хімічного складу стічних вод молокопереробного підприємства. *Техногенно-екологічна безпека*. 2020. № 7. С. 13-21.
7. Семенова О. І., Танащук Л. І., Ткаченко Т. Л. Очищення стічних вод молокопереробних підприємств. *Вода і водоочисні технології*. 2004. № 4. С. 5-6.
8. Лоренц В. И. Очистка сточных вод предприятий пищевой промышленности. Киев : Будівельник, 1972. 188 с.
9. Гвоздяк П. І. Біохімія води. Біотехнологія води (автомонографія). Київ : Видавничий дом «Києво-Могилянська академія», 2019. 228 с.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Швед О. В., Петріна Р. О., Комаровська-Порохнявець О. З., Новіков В. П. Екологічна біотехнологія : навчальний посібник у двох книгах. Книга II. Львів : Видавництво Львівської політехніки, 2018. 368 с.
2. Швед О. В., Петріна Р. О., Комаровська-Порохнявець О. З., Новіков В. П. Екологічна біотехнологія : навчальний посібник у двох книгах. Книга I. Львів : Видавництво Львівської політехніки, 2018. 424 с.
3. Кляченко О. Л., Мельничук М. Д., Іванова Т. В. Екологічні біотехнології : теорія і практика : навчальний посібник. Вінниця, ТОВ «Нілан-ЛТД», 2015. 254 с.

4. Гуляєв В. М., Волошин М. Д. Екологічна біотехнологія : навчальний посібник для студентів спеціальності біотехнологія. Дніпропетровськ : 2006. 126 с.
5. Горова А. І., Лисицька С. М., Павличенко А. В., Скворцова Т. В. Біотехнології в екології : навч. посібник. Дніпро : Національний гірничий університет, 2012. 184 с.
6. Трохимчук І. М., Плюта Н. В., Логвиненко І. П., Сачук Р. М. Біотехнологія з основами екології : навчальний посібник. Київ : Видавничий дім «Кондор», 2019. 304 с.
7. Алмагамбетов К. Х. Биотехнология микроорганизмов. Астана: Изд-во Евразийский национальный университет им. Л. Гумилева, 2008. 244 с.
8. Бублієнко Н. О. Екологічна біотехнологія : конспект лекцій для студ. спец. 6.070800 «Екологія та охорона навколишнього середовища» напряму 0708 «Екологія» ден. форми навч. Київ : НУХТ, 2005. 46 с.
9. Никитин Г. А. Биохимические основы микробиологических производств. Киев: Высшая школа, 1992. 319 с.
10. Вершигора А. Г. Загальна мікробіологія. Київ : Наукова думка, 1988. 343 с.
11. Малашенко Ю. Р., Хайер Ю., Бергер У. Биология метанобразующих и метанооксиляющих бактерий. Київ : Наукова думка, 1993. 256 с.
12. Елисеv С. А., Кучер Р. В. Поверхностно-активные вещества и біотехнологія. Київ : Наукова думка, 1991. 116 с.
13. Квасников Е. И., Щелокова И. Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. Київ : Наукова думка, 1991. 326 с.
14. Бекер М. Е. Введение в биотехнологию. Рига, 1978. 231 с.

## ІНФОРМАЦІЙНІ РЕСУРСИ

1. Електронна наукова інтернет-бібліотека <http://lib.e-science.ru/book>
2. Інтернет портал з біотехнології <http://bio-x.ru/books/promyshlennaya-mikrobiologiya>
3. Медична бібліотека <http://www.booksmed.com/mikrobiologiya/>

Навчальне видання  
(українською мовою)

Рильський Олександр Федорович  
Петруша Юлія Юріївна  
Домбровський Костянтин Олегович

## ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Навчальний посібник  
для здобувачів третього рівня вищої освіти (ступеня доктора філософії)  
освітньо-наукової програми «Екологія»

Рецензент *В.О. Лях*  
Відповідальний за випуск *О.Ф. Рильський*  
Коректор *Ю.Ю. Петруша*