

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.10-МКР.1998«С».2023.11.01.-0.28ПЗ
БАЛТОВСЬКИЙ АНДРІЙ ОЛЕГОВИЧ
2024

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 606:631.5:620.9:582

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету

захисту рослин, біотехнологій та екології

_____ Коломієць Ю.В.

« ____ » _____ 2024 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри

фізіології, біохімії рослин та

біоенергетики

_____ Прилуцька С.В.

« ____ » _____ 2024 р.

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

на тему Біоремедіація забруднених земель з використанням біотехнологічних методів

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»

(код і назва)

Освітня програма «Біотехнологія та біоінженерія»

(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Керівник магістерської роботи

К.І.Н., доцент

(науковий ступінь та вчене звання)

Дрозд П.Ю.

(підпис)

(ПІБ)

Виконав

Балтовський А.О.

(підпис)

(ПІБ студента)

**Національний університет біоресурсів
і природокористування України**

**Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра фізіології та екології рослин
Освітній ступінь «Магістр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»**

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри

“ _____ ” _____ 2024 р.

**З А В Д А Н Н Я Н А В И П У С К Н У
М А Г І С Т Е Р С Ь К У Р О Б О Т У С Т У Д Е Н Т У**

Балтовський Андрій Олегович

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біоремедіація забруднених земель з використанням біотехнологічних методів

керівник роботи к.і.н., доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Дрозд Петро Юрійович,

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

2. Строк подання студентом роботи 15 листопада 2024 року

3. Вихідні дані до роботи: забруднені ґрунти

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Дрозд П.Ю.		
2	Дрозд П.Ю.		
3	Дрозд П.Ю.		

6. Дата видачі завдання 1 жовтня 2024 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної бакалаврської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1		Грудень- Січень	
2		Травень- вересень	

Студент

Керівник роботи

ЗМІСТ

ВСТУП	3
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	5
1.1 Поширення забруднень у навколишньому середовищі та методи їх виявлення	5
1.2 Загальна характеристика біоремедіації та можливості її використання для біодеградації ґрунтів	7
1.3 Особливості біодеградації ґрунтів	10
1.4 Мікроорганізми, які здатні до біодеградації ґрунтів	12
1.5 Шляхи біотрансформації пеніцилінів	14
2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	19
2.1 Матеріали дослідження	19
2.2 Методи дослідження	20
3. РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ	25
3.1 Загальна характеристика зразків ґрунту	25
3.2 Визначення вмісту пеніцилінів у досліджуваних зразках ґрунту	29
3.3 Виділення групи мікроорганізмів стійких до пеніциліну	30
3.4 Дослідження впливу мікроорганізмів на деградацію пеніциліну	31
4 РОЗРОБЛЕННЯ СТАРТАП-ПРОЕКТУ	32
4.1 Аналіз внутрішнього та зовнішнього середовища підприємства	32
4.2 Визначення ключових факторів успіху проекту	36
4.3 Визначення потенційного споживачів	36
4.4 Ціна інноваційної пропозиції на ринку	36
5 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ЗАХИСТ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА	38
ВИСНОВКИ	45
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	48

ВСТУП

Біоремедіація, використовуючи біотехнологічні методи, є актуальною темою в сучасному світі з огляду на поширеність забруднення ґрунтів та потребу у створенні ефективних та екологічно чистих методів їх очищення. Забруднення ґрунтів шкідливими речовинами, такими як нафтопродукти, хімічні речовини та важкі метали, створює серйозні загрози для навколишнього середовища та здоров'я людини.

Біоремедіація є перспективним підходом до вирішення цієї проблеми, оскільки вона використовує природні біологічні процеси для очищення ґрунту від забруднень. Використання мікроорганізмів, бактерій та грибів, здатних розкладати та виводити шкідливі речовини, дозволяє ефективно очищати забруднені землі без шкоди для оточуючого середовища.

З урахуванням зростаючої уваги до екологічних питань та постійного збільшення кількості забруднених земель, розвиток та вдосконалення біотехнологічних методів біоремедіації стає крайньо необхідним завданням. Актуальність досліджень у цій області полягає в пошуку нових ефективних шляхів біоремедіації, розробці біологічних препаратів та методів, що дозволяють швидко та безпечно очищати забруднені ґрунти та відновлювати природне середовище.

Метою даної роботи є вивчення та розвиток методів біоремедіації для очищення забруднених земель використовуючи біотехнологічні підходи.

Предметом роботи є процес біоремедіації забруднених земель.

Об'єктом роботи є забруднені ґрунти, які містять шкідливі речовини, такі як нафтопродукти, хімічні сполуки та важкі метали.

Науковою новизною даної роботи є розробка і впровадження нових біотехнологічних методів біоремедіації для очищення забруднених земель. Ці методи базуються на використанні специфічних мікроорганізмів, які мають здатність ефективно розкладати забруднюючі речовини, такі як нафтопродукти, хімічні сполуки та важкі метали.

Новаторство полягає у поєднанні різних біологічних процесів та використанні нових видів мікроорганізмів, що дозволяє підвищити ефективність біоремедіації та зменшити час, необхідний для відновлення якості забруднених ґрунтів. Робота також включає дослідження впливу різних факторів, таких як температура, вологість та характеристики забруднень, на процес біоремедіації.

Впровадження розроблених методів дозволить ефективно вирішити проблему забруднення ґрунтів і зберегти природні ресурси для майбутніх поколінь.

Теоретичне значення роботи полягає в розширенні наукового розуміння процесів біоремедіації забруднених земель за допомогою біотехнологічних методів. Результати досліджень в цій галузі допоможуть удосконалити теоретичні концепції і підходи до біоремедіації, розкривши нові можливості використання мікроорганізмів для очищення забруднених ґрунтів.

Практичне значення полягає в розробці і впровадженні ефективних технологій біоремедіації, які можуть бути використані на практиці для вирішення проблем забруднення земель. Результати досліджень допоможуть у створенні нових методів та стратегій очищення земельних ділянок від забруднень, що є важливим кроком у збереженні довкілля та відновленні екосистем.

Таким чином, робота має значний внесок як у наукову, так і в практичну сфери, сприяючи розвитку ефективних та стійких до забруднення технологій управління ґрунтовими ресурсами.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Поширення забруднень у навколишньому середовищі та методи їх виявлення

Вплив забруднюючих речовин на довкілля залежить від їхніх фізичних і хімічних властивостей, а також від продуктів їх розпаду та концентрації. Найважливішим параметром, що визначає масштаб поширення забруднення в атмосфері, є тривалість їхнього існування в атмосфері.

На основі цього, викиди забруднюючих речовин поділяють на такі три типи:

А. Викиди, які призводять до глобального забруднення. Сюди входять речовини з великим терміном існування в атмосфері (наприклад, вуглекислий газ, фреони, радіонукліди), які можуть поширюватися в навколишньому середовищі незалежно від місця їхнього викиду.

В. Викиди, які призводять до регіонального забруднення. Сюди входять речовини з обмеженим терміном існування в атмосфері (наприклад, оксиди сірки і азоту, пестициди, важкі метали), які можуть спричинити забруднення великого регіону.

С. Викиди, які призводять до локального забруднення, охоплюють речовини з невеликим терміном існування в атмосфері, такі як грубодисперсні аерозолі, сірководень і т. д. Механізм розповсюдження забруднювачів у різних типових навколишніх середовищах можна розглядати окремо.

У атмосфері та водних середовищах без перемішування фаз, які виникає через вплив вітру, водних течій тощо, розповсюдження речовин відбувається через молекулярну дифузію. Це явище полягає в хаотичному русі атомів, молекул, іонів і колоїдних частинок у газах, рідинах і твердих речовинах в напрямку зменшення концентрації.

Розподіл забруднювачів від точки викиду можна розрахувати, вирішивши відповідні рівняння, але це можливо лише при певних граничних умовах.

Нерівномірне нагрівання атмосфери спричиняє внутрішній рух: тепле і вологе повітря, що легше холодного і сухого, піднімається вгору, а на його місце надходить холодне повітря. Вертикальні потоки такого нагрітого повітря називаються конвекцією, а горизонтальні — адвекцією. Адвекція може бути тепла (потік більш теплого повітря) або холодна (потік більш холодного повітря, ніж те, що витісняється). Конвекція й адвекція спричиняють циркуляцію атмосфери. Обертання Землі призводить до меридіонального руху атмосфери, що викликає утворення циклонів і антициклонів.

Завихрення в атмосфері не виникають лише через обертання Землі, але також через внутрішнє тертя — в'язкість повітря. Чим швидше рухається повітря, тим сильніше виникають вихори, що може спричинити утворення смерчів та торнадо. Такий вихористий рух повітря відомий як турбулентність. Турбулентність призводить до інтенсивного перемішування повітря, що означає, що якщо повітря містить забруднюючі речовини, вони також будуть перемішуватися. Цей процес відомий як турбулентна дифузія. Унаслідок турбулентної дифузії забруднення можуть переноситися не тільки за напрямком вітру, але й вбік (це легко спостерігати на прикладі розширення димового сліду з труби).

У ґрунті та донних осадах, які є твердими фазами, перемішування практично відсутнє.

Розподіл забруднювачів у ґрунті та донних осадах може бути складним процесом, оскільки ці середовища часто містять воду. Вода заповнює пори та тріщини ґрунтів та донних осадів, і дифузія забруднювачів у цій рідкій фазі відбувається з великою швидкістю, що визначається коефіцієнтами дифузії у рідинах. Це може бути на кілька порядків більше, ніж коефіцієнти дифузії у

твердих фазах. Тому коефіцієнт дифузії забруднювача у рідкій фазі визначається іншою формулою, оскільки він не взаємодіє з твердою основою.

Масообмін — це важливий процес, що відбувається між атмосферою та водними об'єктами, такими як океани, річки та озера. Забруднювачі, які переносяться з атмосфери до водного середовища та навпаки, впливають на розподіл забруднювачів у навколишньому середовищі. Цей процес описується моделлю «8 нерухомої плівки», де тонка плівка, яка знаходиться з обох сторін поверхні поділу, дозволяє лише молекулярну дифузію забруднювачів між фазами.

1.2 Загальна характеристика біоремедіації та можливості її використання для біодеградації ґрунтів

Більшість фізико-хімічних методів для деградації органічних забруднювачів часто не ефективні і можуть призводити до утворення шкідливих проміжних продуктів. Використання біотехнологічних підходів у біоремедіації стало новою тенденцією, особливо в галузях, де виникають небезпечні відходи. Біоремедіація поєднує біотрансформацію і біодеградацію забруднюючих речовин у докільлі, перетворюючи їх на нешкідливі або менш небезпечні хімічні речовини. Цей підхід особливо корисний для утилізації антибіотиків, які можуть бути стійкими до звичайних хімічних або фізичних методів розкладання. Біологічні системи, такі як рослини, бактерії, гриби та водорості, широко використовуються для ефективного руйнування забруднювачів у навколишньому середовищі. Наприклад, фіторемедіація, яка використовує зелені рослини та пов'язану з ними мікрофлору, може бути використана для очищення ґрунту або водних ресурсів від різних забруднювачів. Рослини мають різні механізми, такі як накопичення, стабілізація, деградація, випаровування та гідравлічний контроль, які сприяють процесу біоремедіації.

Хоча фітореMediaція є ефективним методом видалення забруднювачів, її використання великими масштабами потребує постійного контролю через ризик передачі забруднення по трофічних ланцюгах.

Біоремедіація, заснована на мікроорганізмах, має кілька переваг над фітореMediaцією. Наприклад, вона відрізняється простотою вирощування, більшою питомою біомасою та легкістю генетичних маніпуляцій, тому є найкращим підходом для відновлення навколишнього середовища. Мікроорганізми широко поширені в різних екосистемах і можуть легко адаптуватися до різних умов, діяти як біодеструктори та брати участь у біогеохімічних циклах. Вони використовують механізми мікробного захисту, такі як біоаккумуляція, біотрансформація, випаровування, іммобілізація та деградація, для видалення та трансформації органічних та неорганічних токсичних речовин у навколишньому середовищі. Мікробна деградація, зокрема, є важливим методом для розкладання антибіотиків і має такі переваги, як низька вартість, висока ефективність та мінімальне супутнє забруднення навколишнього середовища.

Мікроорганізми, які протягом тривалого часу перебувають на забрудненій території, добре пристосовані до токсичних речовин та більшості умов навколишнього середовища, включаючи температуру, рН та оксидо-відновний потенціал. Незважаючи на переваги біоремедіації антибіотиків за допомогою мікроорганізмів, існують деякі недоліки. Наприклад, існує ризик горизонтального та вертикального передачі генів між мікроорганізмами, що може призвести до збільшення патогенності та стійкості до антибіотиків. Також складна структура антибіотиків може ускладнювати їхню мікробну деградацію.

Для зменшення ризику передачі генів можна використовувати закриті системи обробки забрудненого ґрунту (тобто біоремедіація *ex situ*), після чого використаний мікроорганізм може бути знищений стерилізацією. Умови навколишнього середовища впливають на біодеградацію, іноді ускладнюючи процес. Навіть якщо дослідження в лабораторних умовах дає успішні

результати, у реальних умовах природних екосистем або агробіоценозів його застосування може бути менш ефективним. Це може бути пов'язано з недостатньо сприятливими умовами для росту мікроорганізмів та підтримки їхньої життєдіяльності, оскільки швидкість росту та чисельність популяції мікроорганізмів є важливими факторами для процесу біоремедіації.

На процес біоремедіації ґрунту впливає низка факторів, що є істотними для його успішності. Серед них поживні речовини, які стимулюють ріст та метаболізм мікроорганізмів. Вуглець, азот і фосфор є основними елементами, необхідними для життєдіяльності, а мікроелементи, такі як залізо, магній, кальцій, а також фактори росту, вітаміни і амінокислоти, впливають на ріст та метаболічну активність мікроорганізмів залежно від їхнього типу.

Також важливим є рівень рН середовища, який впливає на мікробні спільноти та доступність забруднюючих речовин. рН регулює процес мікробного біосинтезу та впливає на мікробну біодеградацію. Хоча більшість мікроорганізмів зазвичай ростуть при нейтральному рН (6,5–7), деякі можуть витримувати кислотне або лужне середовище. Рівень рН також впливає на іонний заряд мікробних клітин і форму забруднюючих речовин у ґрунті, що в свою чергу впливає на процес біосорбції та сорбції забруднюючих речовин компонентами ґрунту.

Сучасний прогрес у таких областях, як нанобіотехнологія, біоелектроніка та синтетична біотехнологія, дозволяє глибше розуміти механізми біодеградації та розробляти більш ефективні стратегії для поліпшення цього процесу. З'явилася нова методика, відома як нанобіоремедіація, яка використовує біосинтезовані наноматеріали для видалення органічних та неорганічних забруднювачів з ґрунту, підземних вод та промислових стоків. Наночастинки, отримані за допомогою мікроорганізмів, мають високу біосумісність та не виявляють токсичності у навколишньому середовищі.

Синтетична біологія допомагає створити генетично модифіковані мікроорганізми з покращеною стійкістю та ефективністю деградації. Цей

підхід дозволяє програмувати підвищення ефективності видалення та розкладання антибіотиків шляхом вивчення координації клітин у штучних мікробних спільнотах, передачі сигналів клітинами та визначення кворуму. Технологія редагування генів також може бути використана для створення біологічних агентів з послідовностями цільових генів, що відповідають за деградацію антибіотиків.

У майбутньому слід активніше використовувати синтетичну біологію для покращення процесів біоремедіації та звертати увагу на фактори, що сприяють швидкості деградації забруднювачів. Також варто акцентувати увагу на використанні генетично модифікованих мікроорганізмів у стратегіях біоремедіації *in situ*. Ці технологічні досягнення мають потенціал покращити ефективність біоремедіації, зокрема щодо деградації антибіотиків.

1.3 Особливості біодеградації ґрунтів

У ґрунтовому середовищі антибіотики можуть бути піддані різноманітним абіотичним та/або біотичним процесам, таким як трансформація/деградація, сорбція десорбція, поглинання рослинами та транспортування в ґрунтові води.

Біотичний фактор включає біотрансформацію мікроорганізмами, тоді як абіотичний фактор охоплює фізико-хімічні процеси та реакції, що відбуваються під впливом зовнішніх факторів: гідроліз, сорбцію, реакції окиснення, фотолізу та відновлення. Сприйнятливність до абіотичної деградації залежить від хімічної структури, і приблизно 70% антибіотиків можуть зберігатися в незміненому стані або переходити у різні проміжні продукти розкладу в навколишньому середовищі.

Процес фотокаталізу підпорядковується основному принципу АОР, який використовує УФ-випромінювання для генерації реактивних радикалів для каталізації деградації органічних забруднювачів. Цей процес призводить до

утворення гідроксильних радикалів, які сприяють розкладанню складних молекул антибіотиків на простіші речовини. Проте, основним недоліком цього процесу є утворення проміжних продуктів, які можуть зберігати токсичні властивості вихідних сполук або навіть бути ще більш токсичними.

У ґрунтовому середовищі антибіотики можуть піддаватися різноманітним абіотичним та біотичним процесам, що впливають на їхню деградацію.

Абіотичні фактори, такі як кисень і озон, можуть брати участь у процесах окислення антибіотиків, таких як сульфаметоксазол і окситетрациклін. У присутності іонів металів, таких як ртуть, мідь, цинк, кадмій та кобальт, бета-лактамі антибіотики можуть руйнуватися через руйнування β -лактамного кільця. Гідроліз, як правило, є одним з найважливіших шляхів абіотичної деградації антибіотиків, а також може відбуватися їхня відновна або окиснювальна трансформація.

У зв'язку з різними абіотичними та біотичними процесами, різні групи антибіотиків можуть демонструвати різну швидкість деградації в ґрунті, що відображається у великому діапазоні періодів напіврозпаду в ґрунті.

Окрім абіотичних процесів, мікробна деградація (біодеградація) також може сприяти зникненню антибіотиків у ґрунті. Деякі бактерії, які здатні руйнувати антибіотики, були ідентифіковані у забруднених антибіотиками ґрунтах. Мікроорганізми відіграють ключову роль у деградації або трансформації антибіотиків у ґрунті, знижуючи значення їхнього періоду напіввиведення при внесенні їх у ґрунт. Наприклад, період напіввиведення антибіотиків значно скорочується в ґрунтах з наявністю автохтонних мікроорганізмів порівняно зі стерилізованими ґрунтами.

При введенні еритроміцину в дозі 0,1 мг/кг ґрунту спостерігалася більш швидка деградація в нестерильному ґрунті порівняно зі стерильним: період напіврозпаду склав 6,4 та 40,8 днів відповідно. Сульфаклорпіридазин, введений у дозі 10 мг/кг ґрунту, також деградував швидше в ґрунтах з

автохтонними мікроорганізмами (період напіврозпаду 20–26 днів) порівняно зі стерильними (період напіврозпаду 68–71 день).

Деградація антибіотиків залежить від властивостей ґрунту, таких як вміст органічної речовини, рН, вологість, температура, кисневий статус та текстура. Наприклад, період напіврозпаду для окситетрацикліну в ґрунтах з низьким або високим вмістом органічного вуглецю склав відповідно 30,2 та 39,4 дня.

Повторне введення антибіотиків у ґрунт також впливає на їхню деградацію. Наприклад, повторне введення кларитроміцину та еритроміцину призвело до скорочення періоду напіврозпаду з 36,48 та 69,93 дня до 15,85 та 4,36 дня (у разі введення у дозі 0,1 мг/кг ґрунту) та до 9,51 і 0,94 дня (у разі введення у дозі 10 мг/кг ґрунту). Це явище попередньої адаптації ґрунтових мікроорганізмів також спостерігалось для інших антибіотиків, таких як хлортетрациклін, сульфаметазин та тилозин.

1.4 Мікроорганізми, які здатні до біодеградації ґрунтів

Метою процесу біоремедіації є стимулювання розвитку мікроорганізмів у забруднених ділянках, забезпечуючи їм необхідні поживні речовини і мінерали для виживання в екстремальних умовах та подальшого розкладання забруднювачів. Мікроорганізми активно використовують ці забруднювачі у своїх метаболічних процесах, щоб отримати енергію для збільшення своєї популяції. Активність, стійкість і продуктивність біоаугментованих штамів залежать від багатьох факторів, включаючи місцеву мікробну популяцію, їх фенотипові характеристики, параметри навколишнього середовища та процес введення, що в кінцевому підсумку впливають на ефективність та якість біоремедіації.

У природі мікроорганізми часто існують у вигляді співтовариства різних родів, утворюючи біоплівку, а не окремі вільноживучі клітини. Ця структура

допомагає захистити бактеріальні клітини від стресових умов навколишнього середовища та сприяє процесу біоремедіації шляхом утримання, іммобілізації та накопичення забруднюючих речовин всередині біоплівки.

Мікробна деградація антибіотиків веде до змін у їх молекулярній структурі шляхом руйнування або модифікації, що призводить до їхньої неактивності та безшкідності. Зазвичай біодеградація антибіотиків відбувається за три основні способи: гідроліз, перенесення груп та окислювально-відновні реакції. Успішність біоремедіації суттєво залежить від здатності ізолювати та ідентифікувати найбільш підходящі штами мікроорганізмів, а також зберегти їхню активність після повторного випуску в цільове середовище.

Спеціалізовані умови культивування допомагають зберегти здатність мікробів до деградації за межами їхнього природного середовища. Вибір оптимальних штамів мікроорганізмів має базуватися на розумінні розповсюдженості та динаміки популяцій, а також просторового та часового розподілу мікробних спільнот у вихідному середовищі. Для пошуку та виділення найбільш підходящих штамів з покращеною здатністю до біоремедіації конкретного забруднювача використовують ряд критеріїв відбору.

Серед таких критеріїв відбору можна виділити:

- Відносна кількість вихідних популяцій та окремих видів у популяції у цільовому середовищі існування.
- Толерантність до супутніх домішок.
- Доступність забрудника для мікробних клітин та наявність у мікроорганізмів здатності його руйнувати.

Здатність до біодеградації антибіотиків виявлено у багатьох мікроорганізмів, зокрема у великій кількості бактерій, виділених з різних природних екосистем, стічних вод та гною. Наприклад, деякі штами, такі як *Microbacterium*, *Stenotrophomonas*, *Labrys*, *Ochrobactrum* і *Escherichia*, проявляють здатність розкласти сульфаметоксазол, пеніцилін G,

тетрациклін, еритроміцин та доксициклін у рідких культурах. Інші бактерії, наприклад *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Microbacterium*, *Labrys* і *Bacillus*, можуть руйнувати хлорамфенікол, сульфапіридин, сульфаметазин, ципрофлоксацин, норфлоксацин і цефтіофур. Наприклад, *Microbacterium* sp. проявило здатність до деградації сульфаметазину в ґрунті, що призвело до збільшення ефективності мінералізації цього антибіотика при внесенні культури *Microbacterium* sp. в сільськогосподарський ґрунт.

Штами бактерій, таких як *Proteobacteria* і *Acidobacteria*, *Firmicutes* і *Bacteroidetes*, проявлено здатність до руйнування антибіотичних сполук, наприклад, сульфаметоксазолу. Деякі види бактерій, зокрема *Rhodopirellula baltica*, *Pseudomonas* sp., *Micrococcus luteus*, *Methylibium petroleiphilum*, *Oligotropha carboxidovorans*, *Delftia acidovorans* і *Acinetobacter*, є потенційними учасниками процесу біологічного розкладання багатьох сульфаніламідних антибіотиків. Деякі з цих мікроорганізмів виявили досить високу швидкість біодеградації.

У процесі біоремедіації сульфаметоксазолу, серед ізольованих бактерій, найкращу ефективність деградації, що досягає приблизно $29 \pm 2\%$, продемонстрували *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC PA01, *Pseudomonas putida* ATCC 12633, *Rhodococcus equi* ATCC 13557, *Rhodococcus erythropolis* ATCC 6051, *Rhodococcus erythropolis* ATCC 1, *RCC00chod8op1*, *RCC04ochod80441* та *RCC404441*. Крім того, здатними до деградації цього антибіотика є *R. rhodocrous* ($6,6 \pm 0,9\%$), *P. aeruginosa* ($5,6 \pm 0,15\%$), *R. erythropolis* ($2,9 \pm 0,15\%$), *B. subtilis* ($2,8 \pm 0,03\%$) та *R. zopfii* (менше 1%).

1.5 Шляхи біотрансформації пеніцилінів

Пеніциліни є однією з найпоширеніших груп антибіотиків, що широко використовуються в медицині через їхній вплив на широкий спектр бактерій.

Бета-лактамі антибіотики, такі як пеніциліни і цефалоспорини, складають понад 65% світового ринку антибіотиків. Для ефективного видалення антибіотиків пеніцилінового ряду з відходів досліджено різноманітні методи, такі як хімічний гідроліз, мембранне відділення, адсорбція активованим вугіллям і фотодеградація. Однак ці методи мають свої недоліки, зокрема утворення вторинних токсичних побічних продуктів і високі експлуатаційні витрати.

Біодеградація виступає як альтернативний метод розкладання антибіотиків у відходах. Досліджено, що штам *Bacillus subtilis* сприяє значній деградації антибіотиків цефалексину, амоксициліну та ампіциліну у концентрації 1 мг/дм³, з розкладанням до 10,62%, 25,03% та 22,59% відповідно.

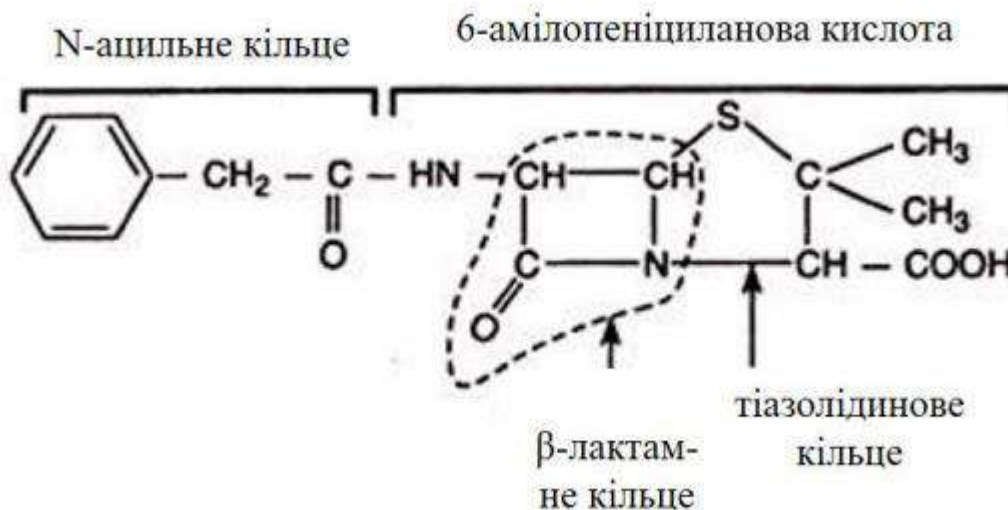


Рис. 1.1. Структурна формула бензил-пеніциліну

У всіх пеніцилінах, як природних, так і напівсинтетичних, основною структурою є 6-амінопеніциланова кислота. Вона складається з чотиричленного гетероциклического β-лактаміного кільця, що зливається з п'ятичленным кільцем, таким як у бензилпеніциліні, або тіазолідиновим кільцем, як у пеніциліні V.

Найбільш активним серед усіх пеніцилінів є пеніцилін G, відомий також як бензилпеніцилін. Це антибіотик вузького спектру, оскільки його дія

головним чином спрямована проти грампозитивних бактерій, зокрема грампозитивних коків та деяких спірохет. Проте він не ефективний проти грамнегативних бактерій через їхню непрониکنість для цього антибіотика.

У біодеградації пеніцилінів важливу роль відіграють гідролази. Ці ферменти специфічно розщеплюють β -лактамне кільце, що присутнє в пеніцилінах і цефалоспоридах. Наразі відомо понад 1300 унікальних видів β -лактамаз. Вони гідролізують β -лактамні антибіотики, перетворюючи їх на відповідні пеніцилоєві кислоти, які втрачають антимікробну активність.

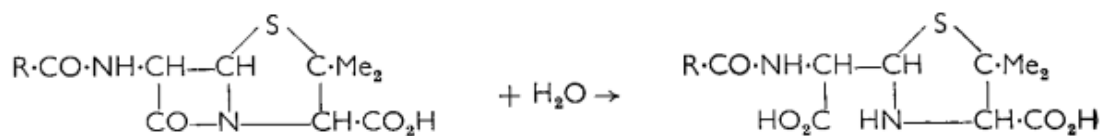


Рис. 1.2. Реакція гідролізу пеніцилінів

Під час біотрансформації пеніцилінів на першому етапі може відбуватися їх розклад за участі амідаз, що призводить до відщеплення радикалу при аміногрупі і утворення 6-амінопеніциланової кислоти або її солей.

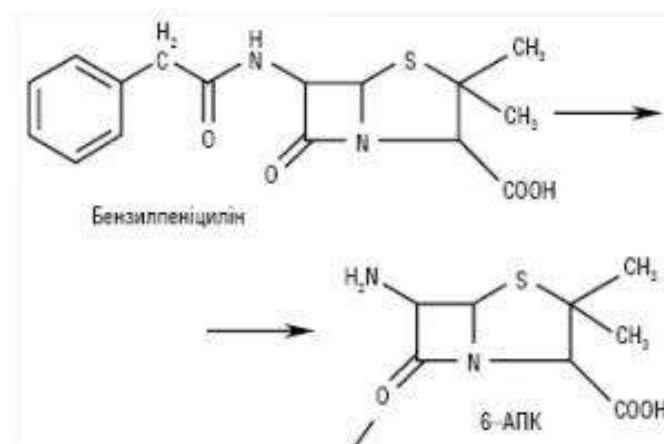


Рис. 1.3. Реакція розкладу пеніцилінів за участі амідаз

6-амінопеніциланова кислота є ключовим проміжним продуктом у виробництві напівсинтетичних антибіотиків у фармацевтичній

промисловості і може також виникати як один з проміжних продуктів розкладу пеніцилінів. На відміну від β -лактамаз, амідази можуть каталізувати як прямі, так і обернені реакції, і продукти, що утворюються при їх дії, залишаються активними антибіотиками.

Крім цих гідролітичних ферментів, існують інші шляхи біотрансформації та біодеградації пеніцилінів. Наприклад, пеніциліни можуть легко розкладатися у відходах за участю мікроорганізмів активного мулу. Особливо *Pseudomonas* sp., яка була виділена з активного мулу, здатна руйнувати цефалоспорин цефалексин з утворенням 2-гідрокси-3-фенілпіразину, продукту, що також утворюється після кислотного гідролізу інших β -лактамів, таких як ампіцилін і цефаклор. Дослідження у анаеробних умовах показують подібні результати для цих препаратів, зі швидкою деградацією та обмеженою мінералізацією вихідної молекули.

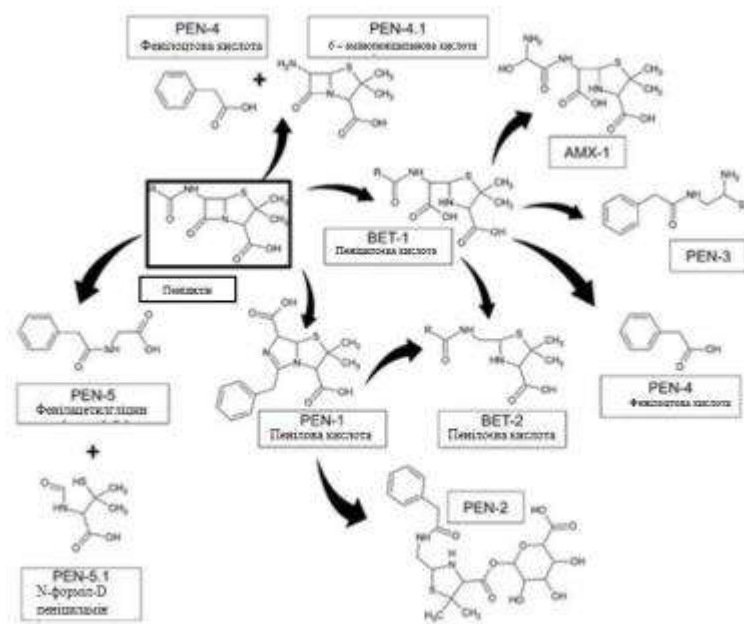


Рис. 1.4. Механізм розкладу пеніцилінів

На рисунку 1.4 зображено кілька ідентифікованих продуктів біодеградації, таких як пеніцилова кислота (BET-1), пенілоєва кислота (BET-2) і пенілова кислота (PEN-1). Ці продукти тимчасово накопичувалися і подальші розпадалися на невідомі метаболіти. Дослідження показали, що

спочатку пеніцилін гідролізувався до пеніцилової кислоти (ВЕТ-1), а потім піддавався декарбоксілюванню до пенілоєвої кислоти (ВЕТ-2).

У випадку амоксициліну, мінералізація виявилася результатом комбінації абіотичних і біотичних процесів. Перш за все, препарат абіотично гідролізувався до амоксицилової кислоти (ВЕТ-1), а потім, через невідомі механізми, розщеплювався за участю мікробіоти активного мулу.

Аналіз кількох штамів бактерій, ізольованих з ґрунту, показав, що мікробіота ґрунту може використовувати бензилпеніцилін (пеніцилін G) як джерело вуглецю.

2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали дослідження

Для проведення досліджень з процесу біоремедіації використовували три зразки ґрунту:

Зразок ґрунту знаходився в Сквирському районі Київської області.

Ще один зразок ґрунту був взятий у Фастівському районі Київської області.

Третій зразок був вермікомпост, отриманий під час культивування червоного каліфорнійського черв'яка в лабораторії кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології КПІ ім. Ігоря Сікорського.

Для виконання досліджень використовували антибіотик бензилпеніцилін у формі натрієвої солі, виробництва Arterium (Україна, Київ).

Для ізоляції чистої культури, пересіву та культивування мікроорганізмів, які здатні до деградації пеніциліну, використовували агаризоване поживне середовище з таким складом:

- Пептон ферментативний - 10 г/дм³.
- Агар мікробіологічний - 5 г/дм³.
- Натрію хлорид - 5 г/дм³.
- Дріжджовий екстракт - 3 г/дм³.

Для перевірки пеніциліну як джерела вуглецю використовували мінерально-сольове середовище з таким складом:

- KH_2PO_4 - 0,5 г/дм³.
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1 г/дм³.
- K_2HPO_4 - 1,8 г/дм³.
- Пеніцилін - 100 мкг/дм³.
- Агар мікробіологічний - 5 г/дм³.

Для нарощування біомаси використовували пептонний бульйон, склад якого включав:

- Пептон ферментативний.
- Натрію хлорид.

У лабораторних дослідженнях використовували таке обладнання:

Чашки Петрі, колби, пробірки, штативи, покривні скельця, бюретки, бюкси, піпетки.

Термостат, сухожарова шафа, електрична плита, рН-метр, автоклав, ваги, мікроскоп.

2.2 Методи дослідження

Зразки ґрунту відбиралися з глибини приблизно 20 см за допомогою стерильного ножа і поміщалися в стерильну банку. Перед дослідженням ґрунт ретельно перевірявся на наявність забруднень, таких як коріння або листя, і висушувався до повітряно-сухого стану при температурі 20 – 25°C.

Для визначення фактичної вологості ґрунту застосовувався такий підхід: скляний бюкс висушувався та зважувався на аналітичних вагах. Попередньо висушені та зважені бюкси наповнювали точним вимірюванням ґрунтом (приблизно 20 г) і висушували до постійної маси в сушильній шафі при температурі 105°C. Після завершення висушування бюкси охолоджували в ексикаторі протягом 20 – 30 хвилин і потім знову зважували на аналітичних вагах.

Об'ємна вологопоглинання ґрунту визначалося як максимальний об'єм води, який може поглинути одиниця об'єму ґрунту. Масу або об'єм води в ґрунті можна виміряти. Для визначення вологопоглинання ґрунту використовувався такий метод: визначали масу відрізу вологої марлі, на яку поміщали точне вимірювання висушеного до постійної маси ґрунту (приблизно 15 г). Ґрунт з марлею зволожували великою кількістю води

(зайвою). Через 5 хвилин надлишкову кількість води віджимали, а потім знову зважували ґрунт з марлею.

Для визначення кислотності в досліджуваних зразках ґрунту використовували потенціометричний метод. Обмінну кислотність ґрунту визначали шляхом обробки ґрунту 1 М розчином хлориду калію і вимірюванням рН витяжки потенціометричним методом. Перед вимірюванням рН-метр калібрували за допомогою стандартних буферних розчинів згідно з інструкцією до приладу.

Для цього брали 10,0 г підготовленого ґрунту та переносили їх в колбу об'ємом 100,0 см³, додаючи 25,0 см³ 1 М розчину хлориду калію і перемішуючи протягом 3-5 хвилин. Після цього електроди рН-метра занурювали в розчин і фіксували покази приладу (значення рН). Між вимірюваннями електрод ретельно промивали дистильованою водою і висушували фільтрувальним папером.

Для визначення актуальної кислотності застосовували аналогічний підхід, використовуючи дистильовану воду як екстрагуючий розчин у співвідношенні ґрунт : вода = 1:5. Для визначення гідролітичної кислотності також застосовували подібний метод, використовуючи водний розчин СН₃СООNa як екстрагент, в співвідношенні ґрунт : 1М СН₃СООNa = 1:2,5 після доби витримування. Усі визначення проводилися в трьох повтореннях для всіх зразків ґрунту.

Для визначення вмісту гумусу у дослідних зразках ґрунтів використовували метод І.В. Тюріна, який широко застосовується при масових аналізах ґрунтів. Цей метод ґрунтується на окисненні гумусових речовин ґрунту до СО₂ за допомогою біхромату калію у сульфатно-кислом середовищі. Дослідження проводили таким чином: 200 мг повітряно-сухого ґрунту насипали в конічну колбу об'ємом 100 см³. До цього додавали 10,0 см³ 0,4 н розчину біхромату калію і суміш перемішували. Колбу нагрівали до кипіння на електроплиті, після чого кип'ятили протягом 5 хвилин і охолоджували до кімнатної температури. Стінки колби змивали

дистильованою водою, а потім додавали розчин фенолантранілової кислоти і титрували суміш стандартним розчином солі Мора.

Основним методом для визначення сумарного вмісту пеніциліну використовували класичну йодометрію продуктів гідролізу. Суть методу полягає в тому, що продукти лужного гідролізу пеніциліну окислюються йодом при певному рН. Для цього використовується ацетатний буфер з рН = 4,5. Лужний гідроліз бета-лактамного кільця призводить до утворення пеніцилової кислоти, яка реагує з йодом. Надлишок йоду визначають зворотнім титруванням тіосульфатом натрію.

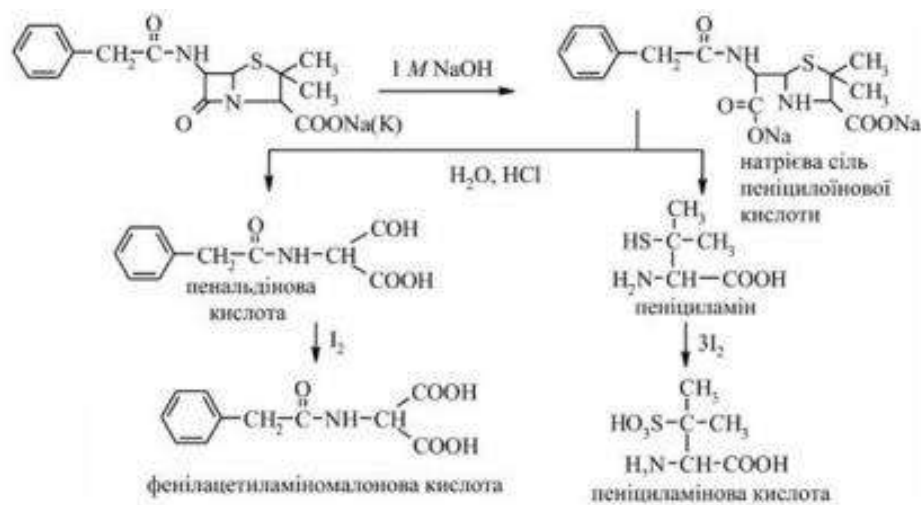


Рисунок 2.1. Механізм реакції

Процедура визначення вмісту пеніциліну у ґрунті була наступною: спочатку в 100-см³ мірну колбу з точністю виважували 20 г ґрунту, додавали 70 см³ дистильованої води і перемішували протягом 5 хвилин за допомогою магнітної мішалки. Після цього отриману суспензію фільтрували. Піпеткою об'ємом 20 см³ брали ґрунтову витяжку і переносили її в конічну колбу об'ємом 250 см³, що закривалася притертою пробкою. До цієї колби додавали 2 см³ 1н розчину їдкого натру, після чого залишали на 20 хвилин.

Після цього до суміші додавали 2 см³ 1н розчину HCl, 5 см³ 0,3 молярного розчину ацетатного буферу (рН 4,5) і 20 см³ 0,01 н розчину йоду, після чого залишали на 20 хвилин у темному місці. Після 20 хвилин суміш

титрували 0,01 н розчином тіосульфату натрію до слабо жовтого кольору, далі додавали 0,5 % розчин крохмалю і титрували до зникнення забарвлення.

У контрольну колбу переносили 20 см³ ґрунтової витяжки, додавали 5 см³ 0,3 молярного розчину ацетатного буферу (рН 4,5), 20 см³ 0,01 н розчину йоду і залишали на 20 хвилин в темному місці, після чого надлишок йоду відтитровували 0,01 н розчином тіосульфату натрію. Різниця в об'ємах між титруваннями корелювала з вмістом пеніцилінів у ґрунтовій витяжці.

Для оцінки динаміки розпаду пеніциліну у досліджуваних зразках ґрунту було відібрано 4 проби по 20 г у чашки Петрі, до яких додавали пеніцилін у кількості 1 мкг/г ґрунту. Ці зразки поміщали у термостат при температурі 25°C. Визначення залишкового вмісту бензилпеніциліну у зразках ґрунту проводили щотижня.

Для виявлення мікроорганізмів, які можуть розкладати пеніциліни, використовували метод посіву газonom витяжки ґрунту на поживний агар у чашках Петрі. З огляду на дані з літератури, припускали, що бактерії, які стійкі до дії пеніциліну, можуть мати здатність до його розкладання. Для оцінки стійкості виділених бактеріальних штамів до пеніциліну на поверхню агару, засіяного ґрунтовою витяжкою, кладли шматочок фільтрувального паперу, змочений розчином пеніциліну з концентраціями 20 мкг/дм³ і 2 мкг/дм³.

При збільшенні відстані дифузії пеніциліну в агарі, концентрація антибіотика логарифмічно зменшувалася до певного рівня, коли більшість ґрунтових бактерій могли розвиватися, утворюючи прозору зону інгібування навколо фільтрувального паперу. Розмір цієї зони інгібування відображає чутливість досліджуваних бактерій до пеніциліну: чим ближче колонії мікроорганізмів до краю зони інгібування, тим більшу резистентність і ймовірну здатність до деградації антибіотика мають ці бактерії. Колонії бактерій, що перебували найближче до фільтрувального паперу, пересівали на тверде поживне середовище для виділення їх у чисту культуру.

Для перевірки здатності мікроорганізмів до використання пеніциліну як джерела вуглецю, було підготовлено мінерально-сольове середовище. Компоненти, такі як KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 та агар, розчинялися у теплій воді і стерилізувалися у автоклаві при 1250C протягом 25 хвилин.

Потім розчин пеніциліну з концентрацією 20 мкг/дм^3 додавали до мінерально-сольового середовища з досліджуваними мікроорганізмами. Саме поживне середовище не містило жодного іншого джерела вуглецю, крім пеніциліну та агару. Мікроорганізми, які проявляли ознаки росту на такому середовищі, демонстрували стійкість до пеніциліну.

Як потенційних агентів біодеградації бензилпеніциліну відбирали ті культури мікроорганізмів, в біомасі яких за 72 години спостерігалось найбільше зростання (кількість накопиченої біомаси оцінювалася візуально за площею заростання агару колоніями). Для накопичення біомаси виділених мікроорганізмів проводили пересів у рідке поживне середовище. Після цього для виділених культур мікроорганізмів провели фарбування за методом Грама та провели світлову мікроскопію.

3. РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Загальна характеристика зразків ґрунту

Для дослідження було відібрано 3 зразки ґрунту. Основні їхні характеристики: вміст гумусу, кислотність, вміст води (фактична вологість) та вологоємність. Зразок ґрунту №1 має такі характеристики.

Маса бюксу, г.	Маса бюксу до сушіння, г.	Маса бюксу після сушіння, г.	Вологість ґрунту, %
27,536	47,824	42,403	36,463
26,000	45,900	40,622	36,096
28,141	48,390	42,863	37,543

Рис. 3.1. Фактична вологість ґрунту № 1

Маса вологої марлі, г.	Маса вологої марлі з ґрунтом, г.	Маса ґрунту, г.	Маса води, г.
• 9,863	• 24,900	• 9,892	• 5,145

Рис. 3.2. Вологоємність ґрунту № 1

Обмінна кислотність	Актуальна кислотність	Гідрологічна кислотність
5,12	6,76	6,89

Рис. 3.3. Кислотність ґрунту № 1

Вміст гумусу: КМ – 0,36; КН₂О – 0,52; Р – 0,200 г;

Контроль титрування – 27,7.

$$C = (27,7 - 15,37) \cdot 0,36 \cdot 100 \cdot 0,0006 \cdot 0,52 \cdot 1,724 \cdot 0,200 = 1,19\%$$

Зразок ґрунту №2 (Київська область, Фастівський район) має такі характеристики:

Маса бюксу, г.	Маса бюксу до сушіння, г.	Маса бюксу після сушіння, г.	Вологість ґрунту, %
28,316	48,918	48,559	1,773
26,441	48,07	47,695	1,764
31,26	51,951	51,58	1,825

Рис. 3.4. Фактична вологість ґрунту № 2

<i>Маса вологої марлі, г.</i>	<i>Маса вологої марлі з ґрунтом, г.</i>	<i>Маса ґрунту, г.</i>	<i>Маса води, г.</i>
• 5,928	• 33,346	• 15,45	• 11,968

Рис. 3.5. Вологоємність ґрунту № 2

Обмінна кислотність	Актуальна кислотність	Гідрологічна кислотність
5,25	6,59	6,88

Рис. 3.6. Кислотність ґрунту № 2

Вміст гумусу: КМ – 0,36; КН₂О – 0,43; Р – 0,200 г;

Контроль титрування – 27,7.

$$C = (27,7 - 15,13) \cdot 0,36 \cdot 100 \cdot 0,0006 \cdot 0,43 \cdot 1,724 \cdot 0,200 = 1,01\%$$

Зразок ґрунту №3 (вермикомпост отриманий при культивуванні червоного каліфорнійського черв'яка в лабораторії кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, КПІ ім. Ігоря Сікорського) має такі характеристики:

Маса бюксу, г.	Маса бюксу до сушіння, г.	Маса бюксу після сушіння, г.	Вологість ґрунту, %
21,400	54,052	39,250	82,924
22,000	54,700	39,830	83,399
28,690	60,920	45,542	91,253

Рис. 3.7. Фактична вологість ґрунту № 3

<i>Маса вологої марлі, г.</i>	<i>Маса вологої марлі з ґрунтом, г.</i>	<i>Маса ґрунту, г.</i>	<i>Маса води, г.</i>
• 17,314	• 45,877	• 20,000	• 8,563

Рис. 3.8. Вологоємність ґрунту № 3

Обмінна кислотність	Актуальна кислотність	Гідрологічна кислотність
5,28	6,33	6,81

Рис. 3.9. Кислотність ґрунту № 3

Вміст гумусу: КМ – 0,36; КН₂О – 0,77; Р – 0,050 г;

Контроль титрування – 27,7.

$$C = (27,7 - 19,4) \cdot 0,36 \cdot 100 \cdot 0,0006 \cdot 0,77 \cdot 1,724 \cdot 0,050 = 4,76\%$$

Отже, ґрунт №1 має такі показники: вологість ґрунту становить 36,701 %; вологоємність – 52,012 %; актуальна кислотність – 6,76; вміст гумусу – 1,19 %.

Ґрунт №2 має такі показники: вологість ґрунту становить 1,78 %; вологоємність – 42,0815 %; актуальна кислотність – 6,33; вміст гумусу – 1,01 %.

Ґрунт №3 має такі показники: вологість ґрунту становить 85,859 %; вологоємність – 77,463 %; актуальна кислотність – 6,59; вміст гумусу – 4,76%.

Згідно ДСТУ 4362:2004 зразок ґрунту №1 та №2 є дернові опідзолени (автоморфні), зразок ґрунту №3 відноситься до ясно-сірих лісових.

3.2 Визначення вмісту пеніцилінів у досліджуваних зразках ґрунту

Деградація бензилпеніциліну у зразка ґрунту №1 відбулася на 52,63 % та 33,62 % за участі мікроорганізмів та за рахунок суто фізико-хімічних факторів відповідно.

Для зразка ґрунту №2 вміст бензилпеніциліну зменшився на 86,74 % та 38,38 % за участі мікроорганізмів та за рахунок суто фізико-хімічних факторів відповідно.

Для зразку ґрунту №3 вміст бензилпеніциліну зменшився на 83,69 % та 41,84 % за участі мікроорганізмів та за рахунок суто фізико-хімічних факторів відповідно.

Отже, найвища ефективність біодеградації бензилпеніциліну спостерігається для зразків ґрунту №2 і №3. Присутність мікроорганізмів у ґрунті підвищує ефективність біодеградації бензилпеніциліну з 38,38% до 86,74 % та з 41,84 до 83,69 % для зразків ґрунту №2 і №3 відповідно.

3.3 Виділення групи мікроорганізмів стійких до пеніциліну

Для вивчення стійкості бактеріальних штамів до пеніциліну зразки ґрунту № 1-3 були посіяні газом витяжки ґрунту на поживний агар у Чашки Петрі. Для оцінки чутливості виділених штамів до пеніциліну на поверхню агару, засіяного ґрунтовою витяжкою, поклали шматочок фільтрувального паперу, що змочений розчином пеніциліну з різними концентраціями.

Після росту бактерій на чашках Петрі з фільтрувальним папером за додавання розчину бензил-пеніциліну в концентрації 20 мкг/дм³, були відібрані мікроорганізми для подальших досліджень. Для кожного зразка ґрунту відібрали колонії бактерій, які виростили біля зони пригнічення росту навколо фільтрувального паперу, і пересіяли їх на свіже поживне агаризоване середовище.

Отримано такі результати: для зразка ґрунту № 1 відібрано 1 колонію (1 вид бактерій), для зразка ґрунту № 2 – 4 колонії (вважається, що це 4 різні види бактерій за морфологічними ознаками колоній), для зразка ґрунту № 3 – 1 колонію.

Далі проводилася перевірка здатності виділених мікроорганізмів використовувати пеніцилін як джерело вуглецю. Для цього культури бактерій були пересіяні у пробірки з поживним агаром і мінерально-сольовим середовищем, де додавали 1 см³ 20 мкг/дм³ розчину бензилпеніциліну. Після інкубації пробірок з культурами бактерій протягом двох днів при 38°C оцінювали візуально інтенсивність росту та накопичення біомаси.

На основі оцінки кількості накопиченої біомаси та здатності до росту на мінерально-сольовому середовищі в присутності бензилпеніциліну було вибрано дві бактеріальні культури, позначені як 2.3 і 3.1, які були виділені зі зразків ґрунту № 2 і № 3 відповідно. Для визначення морфологічних ознак

цих потенційних агентів біоремедіації проводилася мікроскопія їх препаратів, забарвлених за Грамом, за допомогою світлового мікроскопу.

Обидва типи бактерій є грам-негативними, оскільки під час фарбування за методом Грама їх клітини забарвлюються рожевим карболовим фуксином. Бактерії 3.1 мають овальну форму, і хоча різниця в діаметрах овалу невелика (форма клітини подібна до яйця), бактерії 2.3 також овальні, але відрізняються більшим співвідношенням діаметрів (форма клітини схожа на пшеничне зерно).

Отже, з мікроорганізмів, виділених із зразків ґрунту № 1-3, потенційними агентами біоремедіації бензилпеніциліну є культури, які найбільше накопичили біомасу за 72 години на мінерально-сольовому середовищі з додаванням антибіотика. Ці мікроорганізми були виділені із ґрунту № 2 (3 колонія) та № 3.

3.4 Дослідження впливу мікроорганізмів на деградацію пеніциліну

Понадїть, якщо потенційні агенти біоремедіації були виявлені у зразках ґрунту №2 і №3, дослідження проводились у цих зразках з додаванням розчину бензилпеніциліну в такій кількості, щоб вміст бензилпеніциліну в ґрунті становив 10 мкг/г. Ефективність розкладання склала 46,03% для ґрунту №2 і 43,21% для ґрунту №3.

Таким чином, деградація пеніцилінів у рідкому поживному середовищі за 8 діб становила 77,63% та 58,03% відповідно до початкового вмісту для бактеріальних культур 2.3 та 3.1, які були виділені з ґрунту №2 і №3 відповідно.

4 РОЗРОБЛЕННЯ СТАРТАП-ПРОЕКТУ

4.1 Аналіз внутрішнього та зовнішнього середовища підприємства

Бізнес-ідея полягає в розробці та розрахунках технології виготовлення препарату, який сприятиме біодеградації антибіотиків у ґрунті. Об'єктом дослідження є зразки ґрунту, які містять пеніцилін та піддаються мікробіологічному очищенню. Назва проекту: "Біотехнологія очищення ґрунтів від антибіотиків". Потенційними суб'єктами проекту можуть бути аграрні компанії, ферми або приватні особи.

Сутність ідеї

- розробка препарату із вмістом мікроорганізмів, який здатний здійснювати деградацію антибіотиків у ґрунтах

Наявність аналогів або прототипів ідеї

- аналоги відсутні, існують засоби які підвищують родючість ґрунту

Основна потреба, яку задовольнить можлива реалізація стартапу

- сприяє мікробіоті ґрунту та відповідно підвищенню родючості ґрунту

КВЕД виробництва

- 01.6 - Сільське господарство, лісове господарство та рибне господарство

Рис. 4.1. Резюме стартап-проекту

Актуальність проекту полягає в тому, що більшість антибіотиків не розкладаються повністю в організмах людей і тварин, і значна частина викидається у ґрунт через міські стічні води, гній та осад стічних вод, які

потім використовуються для зрошення та удобрення сільськогосподарських угідь. Антибіотики, що потрапляють у ґрунт, можуть впливати на мікробіоценоз, сповільнюючи розклад поживних решток, накопичуватись у рослинах та розповсюджуватись через ґрунт і воду. Мета проекту - розв'язати проблему родючості ґрунтів (вплив на мікробіоту) за допомогою розробленого препарату, який сприятиме біодеградації антибіотиків у ґрунті.

Мета даного дослідження полягає в обранні та обґрунтуванні ефективної технології біологічного очищення ґрунтів від антибіотиків. Продуктом роботи є створення препарату, який містить мікроорганізми, здатні до деградації антибіотиків. Запропонована технологія є одноступінчастою і включає вирощування мікроорганізмів, що відповідають за біоремедіацію ґрунтів. Джерелами сировинної бази є виділені мікроорганізми, здатні до біоремедіації. Для забезпечення неперервності виробничого процесу необхідний персонал, що відповідає Національним рамкам кваліфікації.

Ринок збуту цього продукту орієнтований на комунальні підприємства, фізичних осіб та приватні підприємства. Конкурентні переваги включають екологічність, ефективність та потенціал для вдосконалення виробничого процесу.

На рисунках 4.2–4.3 наведено аналіз загроз і можливостей зовнішнього та внутрішнього середовища підприємства. Цей аналіз проводиться для кращого розуміння факторів, які впливають на реалізацію проекту.

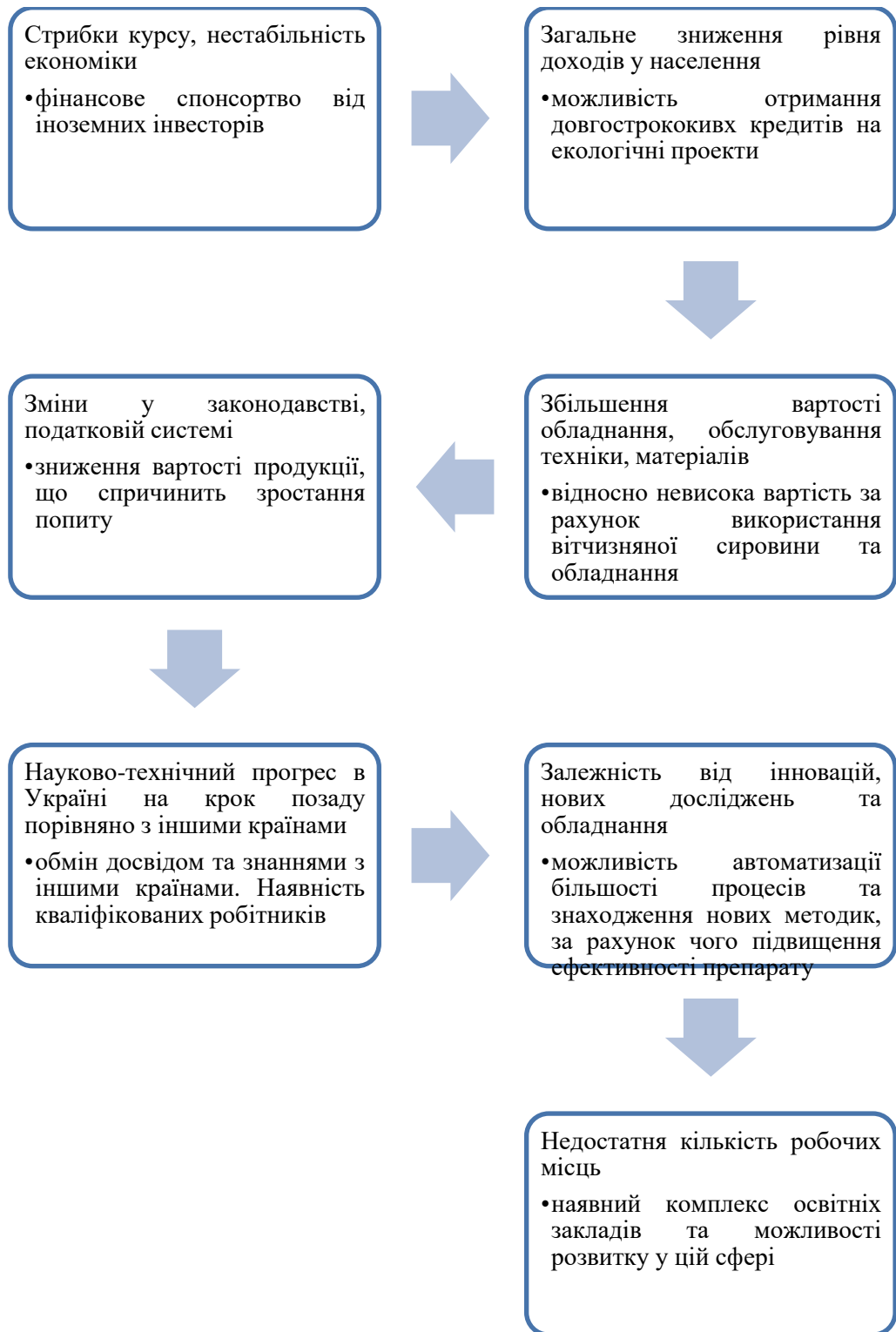


Рис. 4.2. Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища



Рис. 4.3. Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

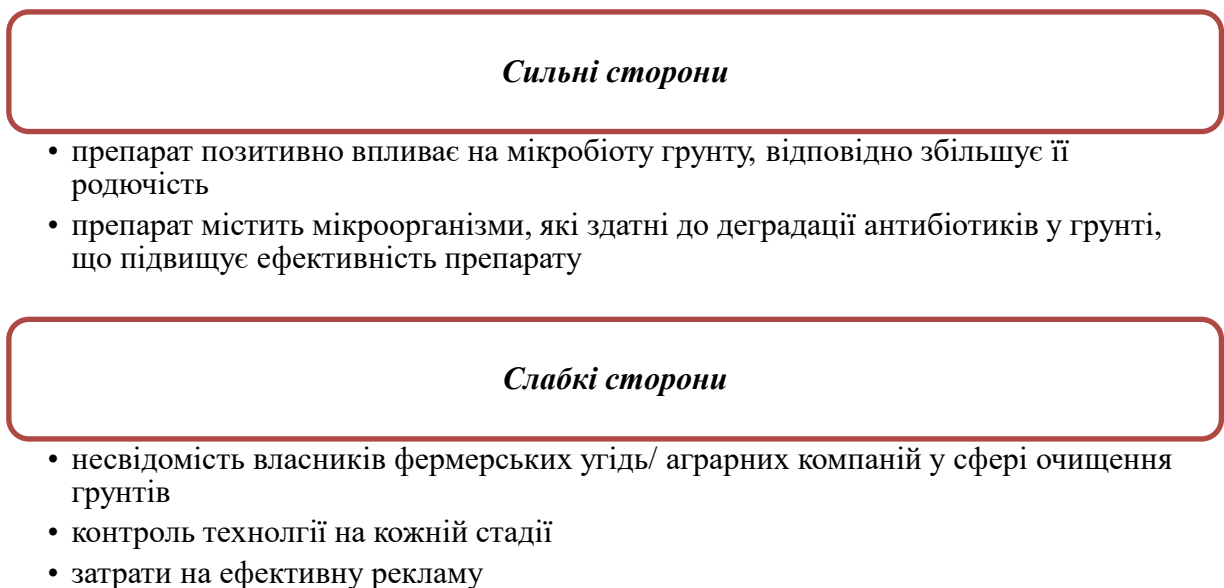


Рис. 4.4. Аналіз сильних та слабких сторін стартап-проекту

4.2 Визначення ключових факторів успіху проекту

Конкурентом 1 є – ТМ «Вермисол» смт. Стрижавка Вінницької області , виробник РКД на основі біогумусу, отриманого шляхом переробки червоним каліфорнійським черв'яком підстилкового гною ВРХ, конкурентом 2 – компанія «АгроВінн» м. Вінниця, виробник добрива універсального «Чистий лист» .

Проаналізувавши отримані дані, можна зробити висновок, що препарат, який містить мікроорганізми для деградації антибіотиків у ґрунтах є більш ефективним та може забезпечувати безперервність процесу у порівнянні з іншими засобами. За ціною він поступається конкуренту 1, але ціна не є ключовим фактором успіху і цей показник не є загрозою. Даний аналіз показує, що препарат є цінним та вартим того, щоб вводити його на ринок.

4.3 Визначення потенційного споживачів

Основними клієнтами на старті виробництва виступають саме фізичні особи, в подальшому ж можливий продаж технології для аграрних компаній або ж продаж готової продукції компаніям, що займаються оптовою торгівлею засобів для підвищення родючості або очистки навколишнього середовища.

4.4 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Розрахунок ціни за витратним методом: $Ц = С + \text{фіксований відсоток прибутку (від собівартості) [грн./од]}$

де Ц – прогнозована ціна товару, грн./од;

C – розрахована автором ідеї, технології, методики очікувана собівартість товару, грн./од.

$$Ц = 29,5 + 1,48 = 30,97 \text{ грн./од.}$$

Визначивши складові калькуляції на розробку і реалізацію ідеї, технології, методики, програми, оцінюємо відповідність цієї розробки ціновим рівням ринків обладнання, сировини, робочої сили для втілення проєкту. Визначає вартісні показники основних і оборотних засобів проєкту.

Основними джерелами фінансування є власні кошти, а також за необхідності участь у конкурсах із отримання гранту. Залучення відбувається не лише завдяки хорошим техніко-економічним показникам, а і через прикладний характер наукових досліджень, що є гнучким, оригінальним і має потенційні можливості для розширення.

5 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ЗАХИСТ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Охорона праці - це система заходів і положень, спрямованих на збереження здоров'я та працездатності людини під час професійної діяльності. При укладанні трудового договору працівнику повідомляються умови праці, наявність небезпечних і шкідливих факторів на робочому місці, можливі наслідки їх впливу на здоров'я, а також про його права на пільги та компенсації відповідно до законодавства і колективного договору. Забороняється укладання договору з працівником, якому за медичним висновком протипоказана запропонована робота за станом здоров'я.

На безперервних роботах не допускається покидати місце роботи або замінювати працівника. Кожен працівник має використовувати свій робочий час для продуктивної діяльності та виконання службових обов'язків, відповідно до розпоряджень адміністрації. Заборонено залучати жінок та неповнолітніх до важких або небезпечних робіт, а також до підйому або переміщення вантажів, маса яких перевищує встановлені норми. Неповнолітні можуть бути прийняті на роботу лише після медичного огляду і не можуть займатися нічною, надурочною або вихідною роботою. Адміністрація забезпечує створення належних умов праці відповідно до вимог нормативних актів та діє служба охорони праці, яка вирішує конкретні питання охорони праці. Приймаються заходи для досягнення встановлених нормативів з охорони праці, включаючи усунення причин нещасних випадків, атестацію робочих місць та контроль за дотриманням правил безпеки.

Працівник має знати і дотримуватися вимог нормативних актів щодо охорони праці, правил безпеки з використання машин, устаткування та інших засобів виробництва. Він також повинен користуватися засобами індивідуального та колективного захисту та дотримуватися внутрішніх правил підприємства. Обов'язковим є проходження медичних оглядів у встановленому порядку. У разі виникнення виробничої ситуації, що

становить загрозу для життя або здоров'я працівника, а також для оточуючих людей та навколишнього середовища, працівник має право вжити заходів для усунення цієї небезпеки та повідомити керівництво. Підприємство має забезпечити проведення періодичних медичних оглядів за свій рахунок. Керівництво може притягнути працівника до дисциплінарної відповідальності за ухилення від медичного огляду та відсторонити його від роботи без збереження заробітної плати. У той же час, працівник має право відмовитися від виконання роботи, якщо вона створює небезпеку для його життя, здоров'я або для навколишнього середовища.

Працівник має право на захист своїх прав у сфері охорони праці за участю представника профспілки та, у разі конфлікту, з відповідними органами державного нагляду за охороною праці. Він також може розірвати трудовий договір, якщо адміністрація не виконує законодавство про охорону праці або умови колективного договору у цій сфері. Професійно неспроможні працівники, за медичним висновком, мають право на переведення на легшу роботу згідно з їх згодою. У разі зупинення експлуатації підприємства або об'єкта, працівники зберігають місце роботи. Усі працівники проходять інструктаж з питань охорони праці та першої допомоги. Також вони зобов'язані проходити перевірку знань щодо нормативних актів про охорону праці щорічно.

Працівникам, які працюють у шкідливих або несприятливих умовах, надаються безкоштовно спеціальний одяг, взуття та інші засоби індивідуального захисту згідно з встановленими нормами для їх професій. Також вони отримують м'які засоби. Якщо професія працівника не включена до Типових норм, засоби індивідуального захисту надаються за переліком, затвердженим у колективному договорі. Під час газозварювальних та електрозварювальних робіт обов'язково використовуються захисні окуляри зі світлофільтрами, а для захисту слуху - протишумові заглушки або навушники.

Працівники, які працюють у зоні ризику падіння предметів, повинні використовувати захисні каски. При роботі з кислотами та лугами необхідно використовувати запобіжні окуляри, гумові рукавички та чоботи. Електроустановки повинні відповідати встановленим правилам, а дверцята шаф з електроапаратурою мають бути замкнуті за допомогою спеціального ключа або замка. Працівники повинні знати, що заземлення є ефективним заходом захисту від електроструму, і перевіряти його перед початком роботи. Роботи з електрообладнанням повинні виконувати лише спеціалісти електроцеху.

У разі перелому чи вивиху кінцівок потрібно застосувати шину, фанерну пластину, палицю або інший подібний предмет для їх фіксації. Якщо можливо, кінцівку можна підвісити на шиї або прибинтувати до тулуба за допомогою бинта або косинки. У випадку падіння з висоти або при підозрі на перелом хребта, потерпілого слід обережно покласти на жорстку, горизонтальну поверхню та, при необхідності, прибинтувати до неї драбинкові шини. Перебуваючи на території підприємства, важливо слухати сигнали від водіїв автомобілів та навантажувачів. Під час проходження поблизу робочого місця електрозварника, необхідно уникати дивитися на вогонь електрозварки, щоб уникнути можливих ушкоджень очей. Також необхідно утримуватися від куріння та наближення до газових балонів і легкозаймистих рідин.

Пересуватися треба тільки по визначених місцях, уникати перебігання колій перед рухомим транспортом та входження за огорожі небезпечних зон. Місця, де ведуться роботи на висоті, слід обходити на безпечній відстані, щоб уникнути можливого падіння предметів. Неможна торкатися кисневих балонів руками або рукавицями, забрудненими мастилом, оскільки це може призвести до вибуху. Заборонено перебувати на дільницях і цехах, де не працюєте, крім випадків виконання дорученої роботи.

Можливий вплив викидів на навколишнє середовище та здоров'я людей потребує уважного аналізу. Залежно від характеру та концентрації різних речовин у викидах можуть виникати різноманітні наслідки.

Негативний вплив на довкілля: Викиди шкідливих речовин можуть спричиняти забруднення повітря, води та ґрунту, що негативно впливає на рослинний та тваринний світ, а також екосистеми в цілому. Наприклад, викиди аміаку можуть призвести до забруднення ґрунту та водойм, що негативно позначиться на рослинності та водних екосистемах.

Загроза здоров'ю людей: Шкідливі речовини, які потрапляють у повітряне середовище, можуть мати негативний вплив на здоров'я людей, особливо якщо вони вдихаються або потрапляють у потрібні кількості через воду чи їжу. Наприклад, викиди хімічних речовин можуть призвести до респіраторних захворювань та отруєнь.

Наслідки для екосистем: Забруднення повітря та води може мати серйозні наслідки для різноманіття екосистем, зокрема, призвести до масового загибелі риби, птахів та інших тварин, а також знищити важливі для екосистеми рослинні види.

Отже, важливо вжити заходів для мінімізації викидів та вжити відповідних заходів щодо збереження середовища та здоров'я населення. Доцільно проводити систематичний моніторинг викидів та їх впливу на навколишнє середовище, а також розробити та впровадити ефективні стратегії зменшення викидів та очищення довкілля.

У випадку виникнення надзвичайних або аварійних ситуацій, а також стихійних лих, значний негативний вплив на довкілля може бути виявлений. Проте, для ліквідації та мінімізації наслідків цих ситуацій передбачається вжити такі заходи:

Розробка та виконання планів дій: Згідно з розробленими планами локалізації та ліквідації аварій, необхідно інформувати відповідні органи та забезпечити їх безперешкодний доступ на територію підприємства.

Безпека водозабору: Відомо, що в разі надзвичайних ситуацій негативного впливу від роботи водозабору не очікується, оскільки водозабірня ділянка знаходиться на відстані від житлових будинків, а територія заводу повністю огорожена.

Безпека обладнання та інфраструктури: Експлуатаційне обладнання, встановлене на підприємстві, підлягає відповідній заземленні та приєднанню до електричної мережі відповідно до вимог.

Мінімізація наслідків: Навіть у випадку безконтрольного виліву невеликої кількості чистої води, можуть виникнути деякі незручності, проте це не несе загрози для людського життя.

Позитивний вплив: Подача води при пожежогасінні та усунення наслідків надзвичайних ситуацій може мати позитивний вплив на підвищення безпеки.

В цілому, вжиті заходи спрямовані на мінімізацію негативного впливу на довкілля та забезпечення безпеки населення в разі надзвичайних ситуацій або аварій.

На підлозі під електричними пристроями розміщуються діелектричні килимки для забезпечення безпеки. На підприємстві вживаються різні засоби індивідуального захисту від ураження електричним струмом, такі як діелектричні рукавички, гумові боти та калоші. Для забезпечення електробезпечності використовуються технічні заходи, такі як захисне заземлення, вимір потенціалів, ізоляція струмоведучих частин та інші. Особлива увага приділяється протипожежному захисту, який організовується згідно з національними стандартами і системою пожежної безпеки. Керівник підприємства відповідає за проведення всіх необхідних пожежних заходів.

Він постійно перевіряє роботу теплового обладнання, стан електропроводки і те, як всі працівники дотримуються протипожежного режиму на підприємстві. Керівник підприємства проводить інструктаж з питань протипожежної безпеки з новими працівниками при прийомі на роботу і навчає їх основам пожежної техніки. Основні причини пожежі на

підприємстві можуть включати необережне поводження з вогнем, несправність виробничого обладнання і електроустаткування, коротке замикання, перевантаження електродвигунів і деякі хімічні процеси, такі як самозаймання або самоzapalювання. Часті випадки пожеж стаються через порушення будівельних та пожежних норм і правил. Також слід зазначити, що пожежа може бути спричинена засміченістю території підприємства, неправильним сортуванням пожежонебезпечних відходів та недбалістю у видаленні виробничого пилю з освітлювальних приладів.

На підприємстві регулярно проводять технічне обслуговування вентиляційних систем, щоб уникнути нагромадження пилю та смолистих продуктів, які можуть спричинити пожежу. Технічні працівники відстежують справність витяжних пристроїв, вчасно усувають будь-які неполадки та регулярно очищають повітроводи. Перед використанням електроустаткування проводяться перевірки на відповідність вимогам безпеки: проводка прихована, обладнання заземлене, рубильники розташовані поза приміщеннями, світильники обладнані пилонепроникними обгородженнями.

Для запобігання аварій та обмеження викидів небезпечних речовин передбачається проведення позапланових протипожежних інструктажів, забезпечення наявності первинних засобів пожежогасіння, перевірка роботи систем внутрішнього та зовнішнього протипожежного водогону, запобігання накопиченню легкозаймистих матеріалів, посилення контролю та персональної відповідальності працівників, раціональне розташування виробничих будівель і споруд, а також використання сертифікованого устаткування.

- Забезпечення виконання мінімально допустимих відстаней при прокладенні інженерних комунікацій.

- Використання конструктивних рішень для утворення перешкод поширенню пожежі, таких як протипожежні перегородки та перекриття для

розділення приміщень з різною пожежною та вибухонебезпечною категорією.

- Влаштування евакуаційних виходів з використанням вогнетривких будівельних конструкцій та матеріалів.

- Заповнення прорізів в протипожежних перешкодах за допомогою протипожежних дверей та вікон.

- Встановлення системи пожежної сигналізації у всіх виробничих приміщеннях, за винятком приміщень з мокрим процесом.

- Організація подачі та вивезення пакувальних матеріалів без їх нагромадження у відділенні пакування.

- Забезпечення протипожежного водопостачання.

- Влаштування під'їзних шляхів для пожежного транспорту.

- Заземлення устаткування та захист від блискавки.

- Використання сертифікованого технологічного обладнання та контроль за його станом.

- Встановлення щитів із пожежним інвентарем та первинними засобами пожежогасіння.

ВИСНОВКИ

Нерівномірне нагрівання атмосфери спричиняє внутрішній рух: тепле і вологе повітря, що легше холодного і сухого, піднімається вгору, а на його місце надходить холодне повітря. Вертикальні потоки такого нагрітого повітря називаються конвекцією, а горизонтальні — адвекцією. Адвекція може бути тепла (потік більш теплого повітря) або холодна (потік більш холодного повітря, ніж те, що витісняється). Конвекція й адвекція спричиняють циркуляцію атмосфери. Обертання Землі призводить до меридіонального руху атмосфери, що викликає утворення циклонів і антициклонів.

Біологічні системи, такі як рослини, бактерії, гриби та водорості, широко використовуються для ефективного руйнування забруднювачів у навколишньому середовищі. Наприклад, фітореMediaція, яка використовує зелені рослини та пов'язану з ними мікрофлору, може бути використана для очищення ґрунту або водних ресурсів від різних забруднювачів. Рослини мають різні механізми, такі як накопичення, стабілізація, деградація, випаровування та гідравлічний контроль, які сприяють процесу біоремедіації.

У ґрунтовому середовищі антибіотики можуть бути піддані різноманітним абіотичним та/або біотичним процесам, таким як трансформація/деградація, сорбція десорбція, поглинання рослинами та транспортування в ґрунтові води.

Метою процесу біоремедіації є стимулювання розвитку мікроорганізмів у забруднених ділянках, забезпечуючи їм необхідні поживні речовини і мінерали для виживання в екстремальних умовах та подальшого розкладання забруднювачів. Мікроорганізми активно використовують ці забруднювачі у своїх метаболічних процесах, щоб отримати енергію для збільшення своєї популяції. Активність, стійкість і продуктивність біоаугментованих штамів залежать від багатьох факторів, включаючи місцеву мікробну популяцію, їх фенотипові характеристики, параметри навколишнього середовища та процес

введення, що в кінцевому підсумку впливають на ефективність та якість біоремедіації.

Для визначення фактичної вологості ґрунту застосовувався такий підхід: скляний бюкс висушувався та зважувався на аналітичних вагах. Попередньо висушені та зважені бюкси наповнювали точним вимірюванням ґрунтом (приблизно 20 г) і висушували до постійної маси в сушильній шафі при температурі 105°C. Після завершення висушування бюкси охолоджували в ексикаторі протягом 20 – 30 хвилин і потім знову зважували на аналітичних вагах.

Для вивчення стійкості бактеріальних штамів до пеніциліну зразки ґрунту № 1-3 були посіяні газом витяжки ґрунту на поживний агар у Чашки Петрі. Для оцінки чутливості виділених штамів до пеніциліну на поверхню агару, засіяного ґрунтовою витяжкою, поклали шматочок фільтрувального паперу, що змочений розчином пеніциліну з різними концентраціями.

Отримано такі результати: для зразка ґрунту № 1 відібрано 1 колонію (1 вид бактерій), для зразка ґрунту № 2 – 4 колонії (вважається, що це 4 різні види бактерій за морфологічними ознаками колоній), для зразка ґрунту № 3 – 1 колонію.

Мета даного дослідження полягає в обранні та обґрунтуванні ефективної технології біологічного очищення ґрунтів від антибіотиків. Продуктом роботи є створення препарату, який містить мікроорганізми, здатні до деградації антибіотиків. Запропонована технологія є одноступінчастою і включає вирощування мікроорганізмів, що відповідають за біоремедіацію ґрунтів. Джерелами сировинної бази є виділені мікроорганізми, здатні до біоремедіації. Для забезпечення неперервності виробничого процесу необхідний персонал, що відповідає Національним рамкам кваліфікації.

Охорона праці - це система заходів і положень, спрямованих на збереження здоров'я та працездатності людини під час професійної діяльності. При укладанні трудового договору працівнику повідомляються умови праці, наявність небезпечних і шкідливих факторів на робочому місці, можливі наслідки їх впливу на здоров'я, а також про його права на пільги та компенсації відповідно до законодавства і колективного договору. Забороняється укладання договору з працівником, якому за медичним висновком протипоказана запропонована робота за станом здоров'я.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Zhang, Z., Zhang, Q., Wang, T. et al. Assessment of global health risk of antibiotic resistance genes. *Nat Commun* 13, 2022.
2. He Y, Zhou K, Rao Y, Ji R. Environmental risks of antibiotics in soil and the related bioremediation technologies. PMID: 34708606, 2021.
3. A. Ezzariai, M. Hafidi, A. Khadra, Q. Aemig, M. Barret, D. Patureau. Human and veterinary antibiotics during composting of sludge or manure: global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes. *J. Hazard. Mater.*, 2018. № 359. pp. 465-481.
4. Klein E. Y., Van Boeckel T. P., Martinez E. M., Pant S., Gandra S., Levin S. A., Goossens H. and Laxminarayan R., Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018. № 115.
5. Henriksson P. J. G., Rico A., Troell M., Klinger D. H., Buschmann A. H., Saksida S., Chadag M. V. and Zhang W. Unpacking factors influencing antimicrobial use in global aquaculture and their implication for management: a review from a systems perspective. *Sustain Sci.* , 2018.
6. Polianciuc S. I., Gurzău A. E., Ștefan M. G. and Loghin F., Antibiotics in the environment: causes and consequences. *Med. Pharm.* , 2020.
7. Yue Zhang, Yang Li, Xiaoxia Liu, Ying Sun, Determination of multiple antibiotics in agricultural soil using a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method coupled with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. 08.11.2021.
8. Meng, M., He, Z., Xu, Y., Wang, L., Peng, Y., & Liu, X. Simultaneous extraction and determination of antibiotics in soils using a method based on quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 2018. № 40 (16). pp. 3214–3220.

9. Pawan Kumar Maurya, Pranjal Chandra, Antibiotics and analytical methods used for their determination, In Woodhead Publishing Series in Biomaterials. Nanobioanalytical Approaches to Medical Diagnostics, 2022. pp. 143-177.

10.Svitlana P. Karpova Maryna M. Ivashura and Irina Yu. Petukhova, Quantitative determination of piperacillin by iodometric method using potassium peroxomonosulfate, 2013.

11.Mohamed M. Y. Kaddah, Emad H. Al-Dokhmaisy, Basem Mansour, Hoda G. Daabees, Miranda F. Kamal, Quantification of 16 cephalosporins in the aquatic environment by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Separation Science, 2022. pp. 4052-4069.

12.Zhao Ma, Juan Liu, Hui Li, Wei Zhang, Mark A. Williams, Yanzheng Gao, Fredrick Owino Gudda, Chao Lu, Bing Yang, and Michael Gatheru Waigi, A Fast and Easily Parallelizable Biosensor Method for Measuring Extractable Tetracyclines in Soils. Environmental Science & Technology, 2020. Vol. 54 (2). pp. 758-767.

13.Azubuikwe C.C., Chikere C.B., Okpokwasili G.C., Bioremediation techniques– classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. World J Microbiol Biotechnol., 2016.

14.Umesh B. Jagtap, Bioremediation Strategies for Removing Antibiotics from the Environment., 2020.

15.Dixit S., Singh D.P., Phycoremediation: future perspective of green technology, Algae and environmental sustainability. Springer, New Delhi., 2015. pp. 9 – 21.

16.E. Pinelli, Antibiotics bioremediation: perspectives on its ecotoxicity and resistance, Environ. Int., 2019. Vol. 124. pp. 448 – 461.

17.Reis, Ana C.; Kolvenbach, Boris A.; Nunes, Olga C.; Corvini, Philippe F.X. Biodegradation of antibiotics: the new resistance determinants – part I. New Biotechnology, 2019.

18. Abatenh E., Gizaw B., Tsegaye Z., Wassie M., Abatenh E., Gizaw B., Tsegaye Z. and Wassie M. The Role of Microorganisms in Bioremediation - A Review *Open Journal of Environmental Biology*, 2017. pp. 38 – 46.
19. Larsson D.G. Antimicrobial resistance in the environment. *Water Environ. Res*, 2017. № 89. pp. 921 – 941.
20. Wu Y, Feng P, Li R, Chen X, Li X, Sumpradit T, Liu P. Progress in microbial remediation of antibiotic-residue contaminated environment, 2019.
21. Kraemer S. A., Ramachandran A. and Perron G. G. Antibiotic Pollution in the Environment, *Microbial Ecology to Public Policy Microorganisms*, 2019.
22. Niharika Koch, Nazim F. Islam, Songita Sonowal, Ram Prasad, Hemen Sarma, Environmental antibiotics and resistance genes as emerging contaminants: Methods of detection and bioremediation. *Current Research in Microbial Sciences*, 2021. Vol. 2.
23. Jaiswal S. and Shukla P. Alternative Strategies for Microbial Remediation of Pollutants via Synthetic Biology. *Front Microbiol.*, 2020.
24. Mariusz Cycoń, Antibiotics in the Soil Environment—Degradation and Their Impact on Microbial Activity and Diversity. *Front. Microbiol.*, 2019.
25. Orlewska, K., Piotrowska-Seget, Z., Bratosiewicz-Wasik, J., and Cycoń, M. Characterization of bacterial diversity in soil contaminated with the macrolide antibiotic erythromycin and/or inoculated with a multidrug-resistant *Raoultella* sp. strain using the PCR-DGGE approach. *Appl. Soil Ecol.*, 2018. pp. 57–64.
26. Yuan Y, Liu D, Xiang R, Li Z, Zhang M, Zhao J, Fan B, Li C, Niu D, Ren J. Advances in biodegradation of macrolide antibiotics, 2021. pp. 3129 – 3141.
27. Pan, M., and Chu, L. M. Fate of antibiotics in soil and their uptake by edible crops. *Sci. Total Environ.* 2017. pp. 500 – 512.
28. Liu, Z., Han, Y., Jing, M., and Chen, J. Sorption and transport of sulfonamides in soils amended with wheat straw-derived biochar: effects of water pH, coexistence copper ion, and dissolved organic matter. *J. Soils Sediments* 17., 2017. pp. 771 – 779.