



**Інститут мікробіології і
вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ
Відділ біології екстремофільних мікроорганізмів**

Національний ботанічний сад ім. Миколи Гришка НАНУ

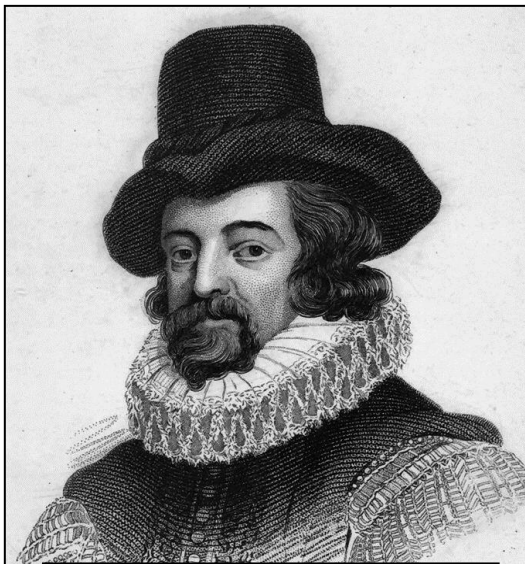
**БІОРЕМЕДІАЦІЯ ЕКОСИСТЕМ
УКРАЇНИ У СВІТЛІ УЧЕННЯ
В.І.ВЕРНАДСЬКОГО**

Президія 2024

О.Гаширев,

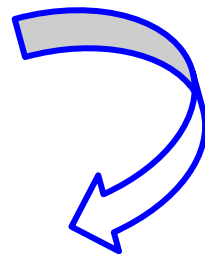
В. Говоруха, Н.Заіменко, О.Дзюба, О.Гаврилюк, Г.Гладка, І.Біда

Київ – 2021



**Френсіс Бекон
1561-1626**

**Ф. Бекон, «Новий Органон», 1620 р:
«Не існує ані теоретичних, ані
прикладних наук.
Є тільки застосування науки до
практики»**



**Наш методологічний підхід – це метод
термодинамічного прогнозування за поєднання:**

- 1. Вчення акад. В.І. Вернадського про Біосферу,**
- 2. Рівнянь стабільності хімічних сполук за Пурбе,**
- 3. Загальної хімії та геохімії,**
- 4. Мікробіології, біохімії, екології.**

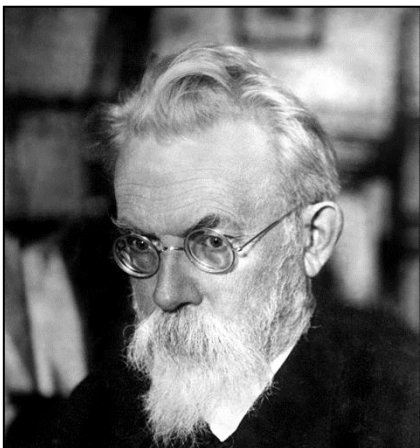
- 1. Вчення акад. В.І. Вернадського про Біосферу – висвітлює глобальні закономірності взаємодії інтегральних екосистем з хімічними елементами**
- 2. Рівняння стабільності хімічних сполук за Пурбе – – визначають умови перебігу реакцій**
- 3. Загальна хімія та геохімія – визначають, як здійснити реакції,**
- 4. Мікробіологія, біохімія та екологія – визначають шляхи взаємодії екосистем з будь-якими хімічними сполуками**

Наша концепція термодинамічного прогнозування поєднує усі 4 підходи і дозволяє:

- теоретично обґрунтувати усі можливі шляхи взаємодії екосистем з будь-якими хімічними сполуками**
- створити новітні природоохоронні та біоенергетичні технології**

Вчення В.І.Вернадського про Біосферу

Біосфера – це глобальна екосистема Землі, що складається з незліченої кількості [видів] живих організмів та здійснює усі види їх взаємодії з органічними та неорганічними сполуками літосфери



Володимир
Вернадський
1863-1945

1. Головна властивість «живої речовини планети Земля» - це інтегрування усіх видів біогеохімічних реакцій у глобальних геологічних процесах на планеті

2. Біогеохімічна енергія росту та розмноження:

$$2^{n\Delta} + (\alpha + 1)^n = Nn$$

n – кількість діб, 2 – початкова кількість організмів

N – кількість організмів після n діб росту,

Δ – коефіцієнт розмноження (покоління/ добу)

α - щодобове збільшення кількості організмів)
Максимально ефективні - мікроорганізми

Термодинамічний прогноз на основі діаграм Пурбе

5

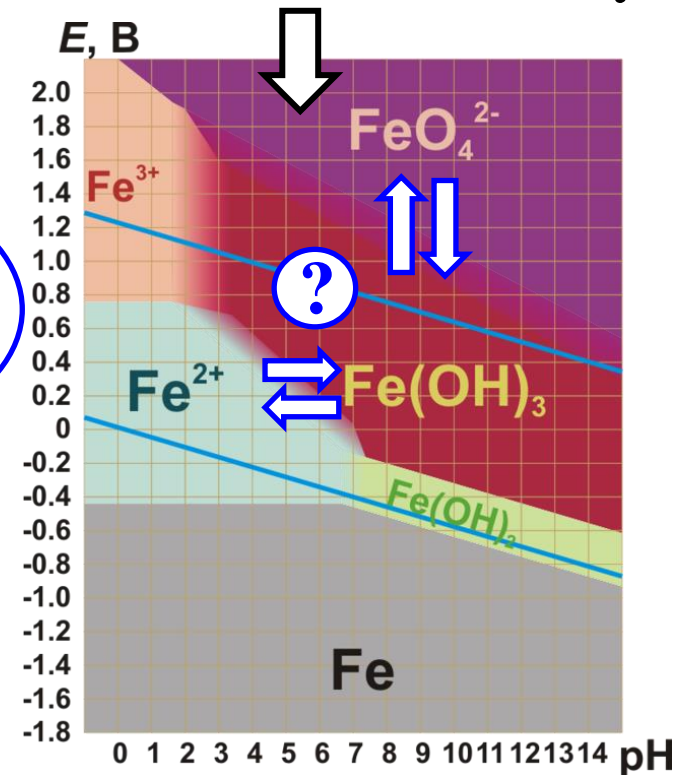
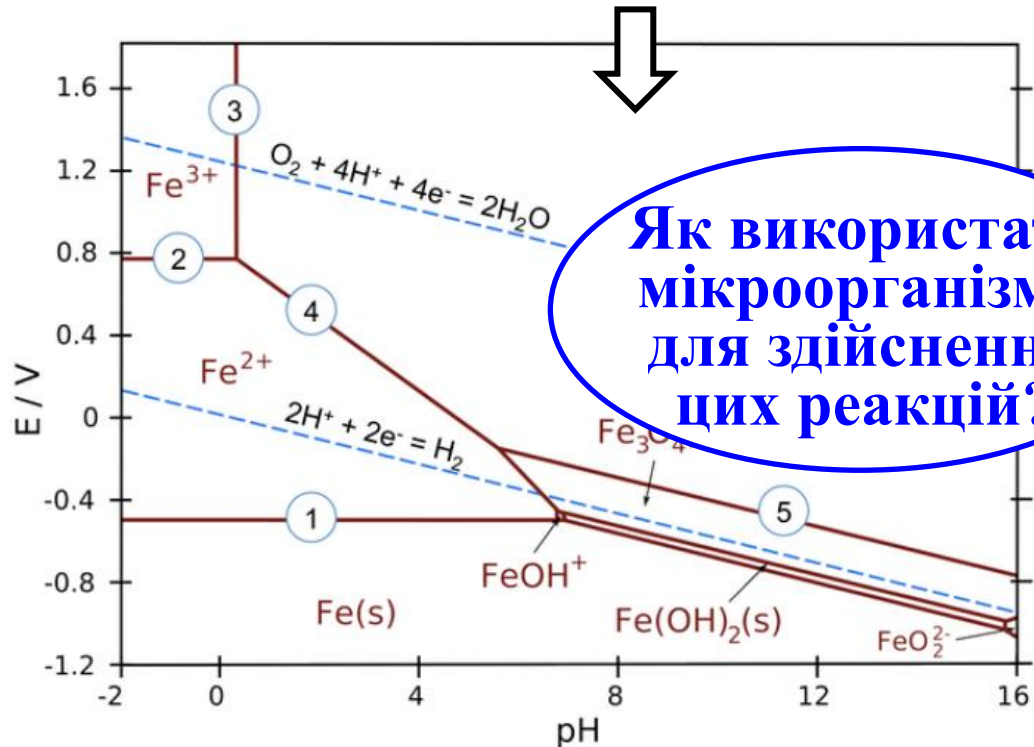


Рівняння реакцій за Пурбе визначають умови перебігу реакцій та поля стабільності хімічних сполук у координатах «рН - Eh»

Рівняння Нернста (1888 р.)

$$Eh(\text{мВ}) = E_0 + RT:(n \times F) \cdot \ln[\text{Ox}:\text{Red}]$$

Рівняння реакцій \Rightarrow Поля стабільності сполук



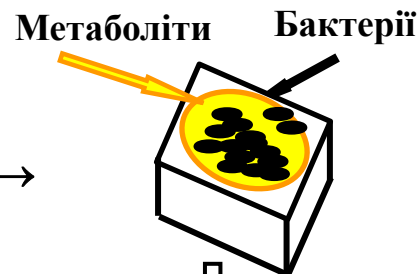
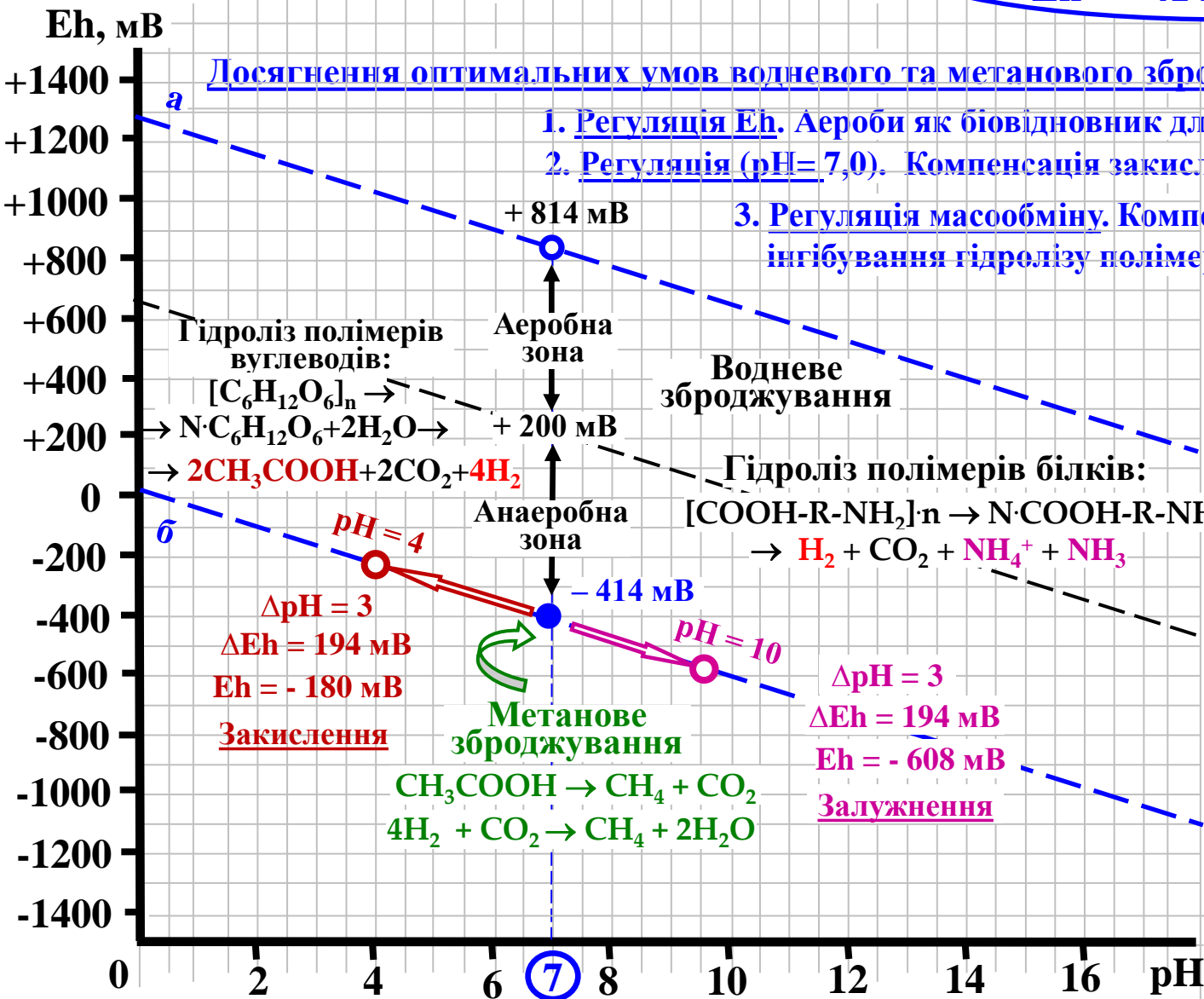
Оптимальна реакція і метаболічні шляхи синтезу H_2 та $CH_4 \rightarrow f(pH, Eh)$

Реакції термодинамічної стабільності води:

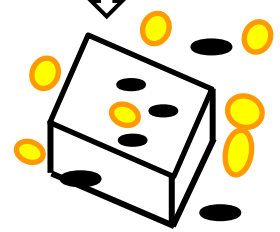
а- верхня межа : $O_2 + 4H^+ = 2H_2O$; $Eh = - 414$ мВ, $pH = 7,0$

б - нижня межа; $2H^+ + 2e = H_2$; $Eh = - 414$ мВ, $pH = 7,0$

● Оптимальні умови синтезу H_2 :
 $Eh = - 414$ мВ, $pH = 7,0$



Масообмін



Видалення токсичних метаболітів

Прогнозування взаємодії мікроорганізмів зі сполуками хрому

Eh, мВ

Розглянуто 101 реакцію

Діаграми стабільності Хрому
a- верхня і **b**- нижня межі
 термодинамічної стабільності води
 описані 2 рівняннями

Вода як редокс буфер

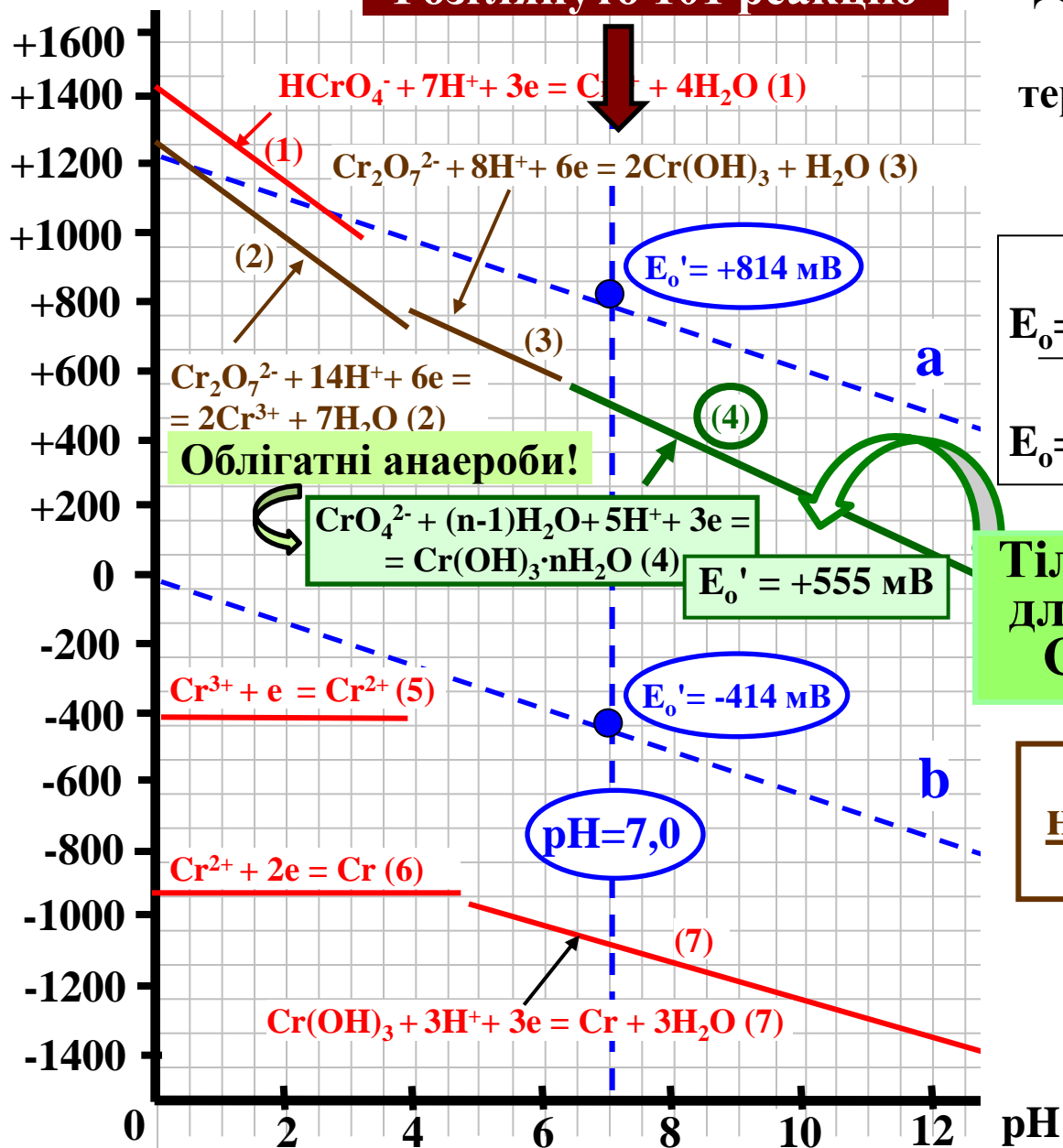
a: $2\text{H}_2\text{O} = \text{O}_2 + 4\text{H}^+$
 $E_0 = 1,228 - 0,0591 \cdot \text{pH} - 0,0295 \cdot \lg \text{PH}_2$

b: $2\text{H}^+ + 2e = \text{H}_2$
 $E_0 = 0,000 - 0,0591 \cdot \text{pH} - 0,0591 \cdot \lg \text{PH}_2$

Тільки реакція № 4 – підхожа для утворення нерозчинного $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ Анаероби!

Реакції № 2,3 - можливі, але непідхожі, бо відновлений Cr^{3+} розчинний

Реакції № 1,5,6,7 - недопустимі - їх Eh знаходиться поза межами стабільності води



Облігатні анаероби!

$\text{CrO}_4^{2-} + (n-1)\text{H}_2\text{O} + 5\text{H}^+ + 3e = \text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O} \quad (4)$
 $E_0' = +555 \text{ мВ}$

pH=7,0

$\text{Cr}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+ + 3e = \text{Cr} + 3\text{H}_2\text{O} \quad (7)$

ГМП – Гранульований мікробний препарат -

- мікробіологічний аналог «живої речовини планети» -
інтегрування усіх біогеохімічних функцій і реакцій

Відмітні риси препарату ⇒ **Універсальність**

Наявність у гранулах:

- Диверсифікований мікробіом ⇒ Багатоваріантність метаболічних шляхів
 - Стартові джерела живлення;
 - Регулятори мікробного метаболізму (pH, Eh).
- Біотехнологічна автономність та саморегуляція процесів

Модифікації препарату (сухі гранули)



Переваги препарату порівняно з аналогами

1. Простота використання гранул
2. Здатність до деструкції широкого спектру субстратів
3. Швидка активація мікроорганізмів та висока активність метаболізму
4. Поліфункціональність препарату – деструкція органічних відходів, отримання енергоносіїв (H_2 , CH_4), очищення металовмісних стоків та ін.
5. Тривалий час зберігання у сухому стані (не менше 3 років)
6. Необмежені сировинні ресурси – ГМП – суміш ЗОМ та мулу аеротенків
7. Можливість широкого промислового використання

Деградація твердих та рідких органічних відходів з отриманням:

- енергоносіїв,**
- біодобрива**
- чистої води**

Наша стратегія – не тільки знешкодження відходів, але й отримання з них корисних продуктів



Ферментери з відходами

РММ - біотехнологія збродження твердих харчових відходів (2003 -2007 рр.):

1. РММ – регулятори мікробного метаболізму – Підвищують швидкість та ефективність деструкції
2. Мікроорганізми - з антарктичного морського мула - адаптовані для збродження відходів

3. Збродження відходів – за 5 діб, $Kd = 80$

Головні технологічні показники

Kd – коефіцієнт деструкції відходів

$$Kd = m_1 : m_2$$

(співвідношення початкової та кінцевої маси відходів);

$$Kd = 80$$

T – тривалість (діб) технологічного циклу

$$T = 5 \text{ діб}$$



$T = 5$ діб
 $Kd = 80$

1 – відходи до збродження

2 – відходи після 5 діб збродження



Збродження капустяних стрижнів

1 2

Воднева ферментація твердих органічних відходів

11

Тривалість
 $T = 2,5$ доби

T
30 діб

Зменшення ваги
 $K_d = 85$

K_d
10

Вихід H_2
50 л/кг
відходів

H_2
20 л/кг

Позитивні ефекти:

1. Зменшення ваги відходів

2. Енергоносії -
 H_2 та
тверде паливо

Анаеробний ферментер, об'єм 240 л

Отримання енергоносіїв за водневої ферментації твердих органічних відходів:

H_2 та тверде паливо



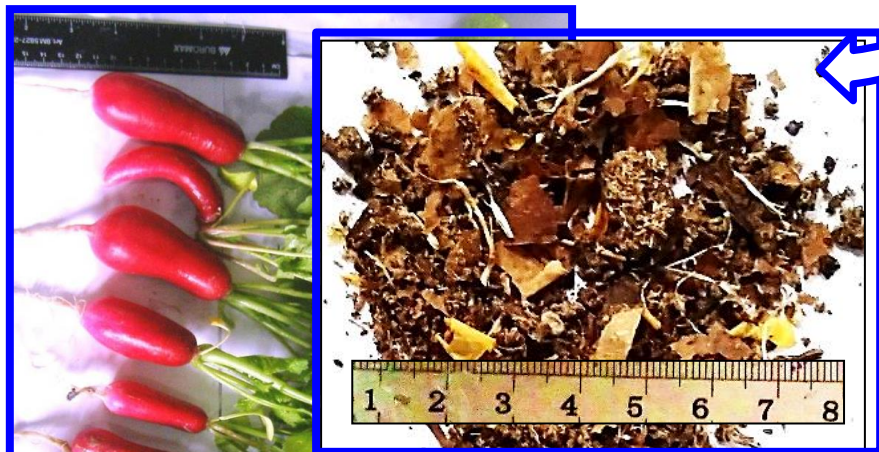
Екологічно чисте паливо – H_2

Суміш– H_2 та CO_2 (1 : 1) може спалюватися безпосередньо на виході із газгольдеру

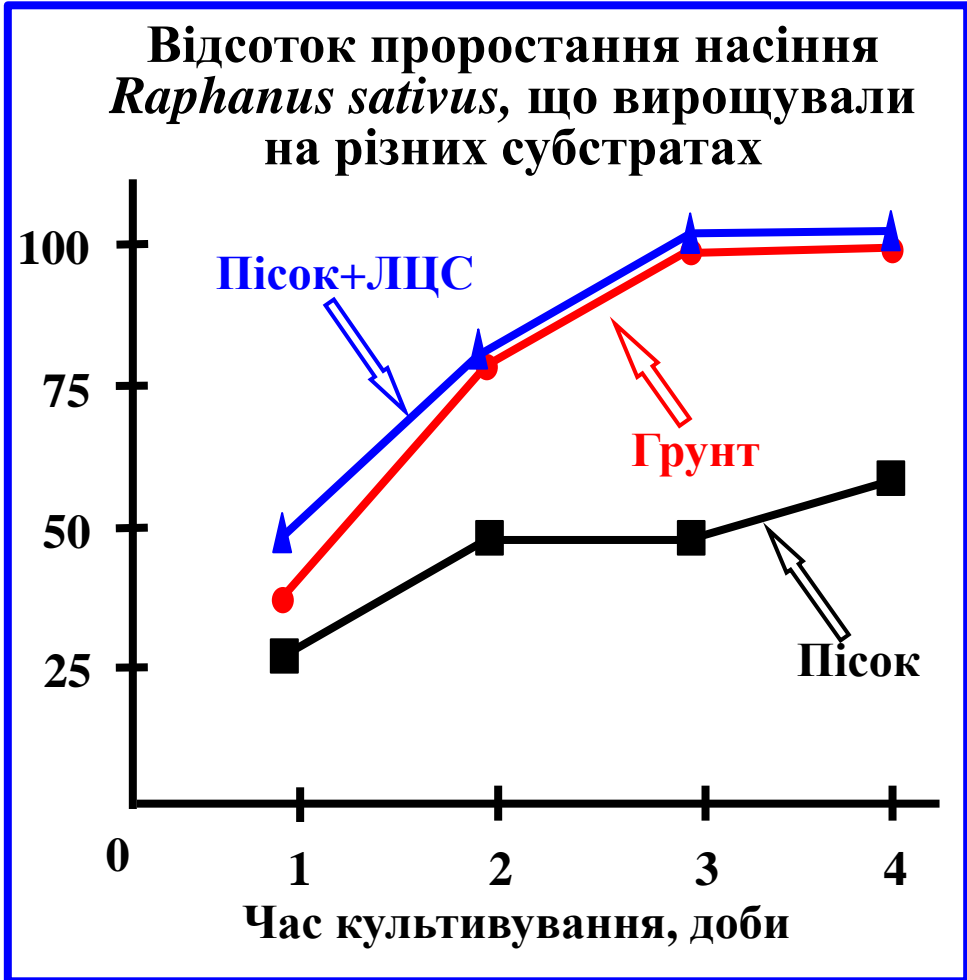
Тверде паливо:
незброджені
лігноцелюлозні
залишки

Рівень відновлення
 $C = 0$, як у деревині
→ ефективне
горіння

Тверді відходи - Лігноцелюлозний субстрат (ЛЦС) як біодобриво



Амоніфікувальні бактрії
 7.2×10^7 КУО/г
Вільноживучі діазотрофи
 5.0×10^6 КУО/г



Фекальний сток

Тверді та рідкі відходи

Тверді відходи



Природоохоронний ефект – деструкція твердих та рідких органічних відходів

Корисні продукти:

Вода

Енергоносії

Тверде паливо

Біодобриво

Врожай

Чиста вода для поливу

Суміш H_2 і CH_4



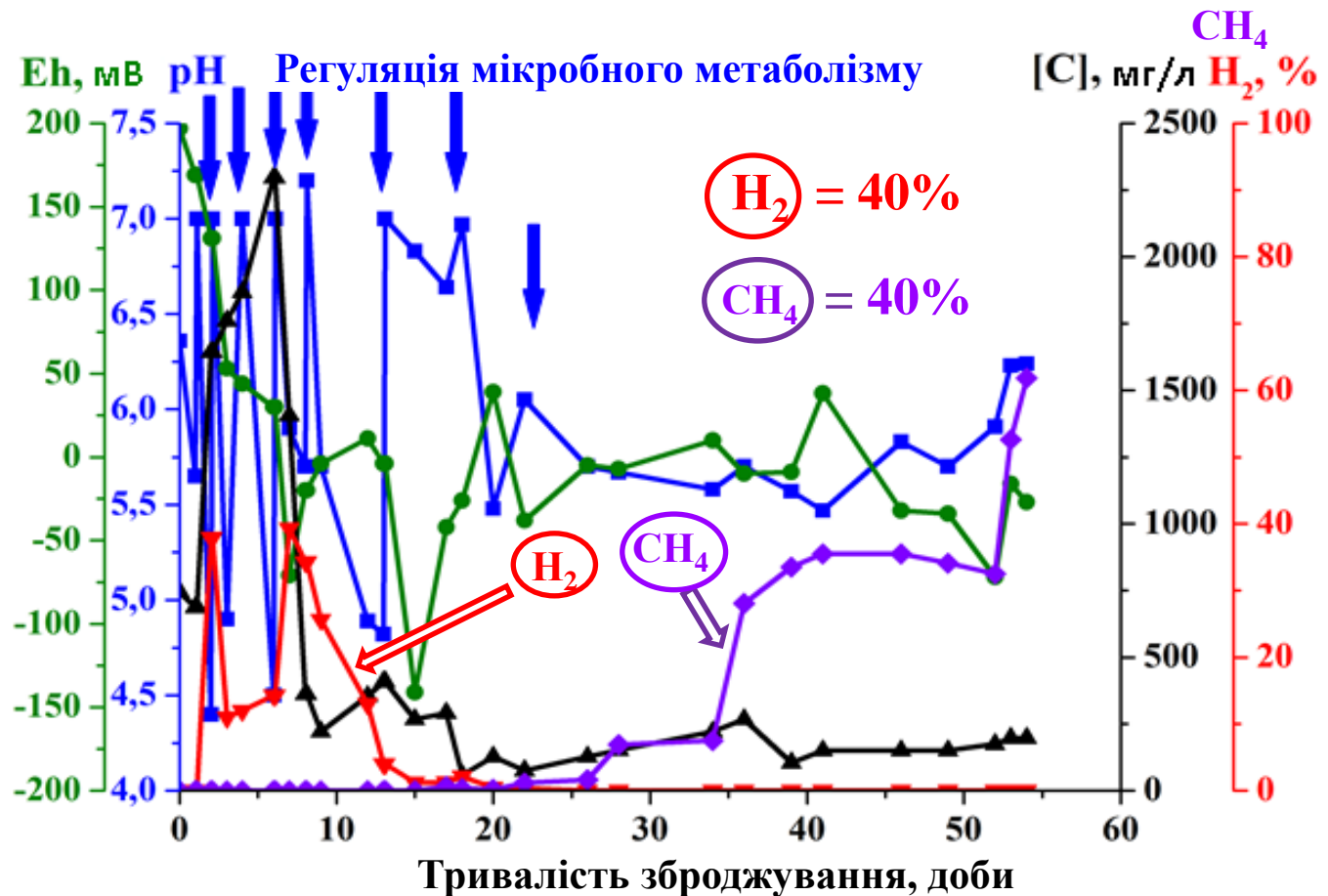
Воднево-метанове зброджування органічних відходів: регуляція метаболізму для їх прискореної деструкції

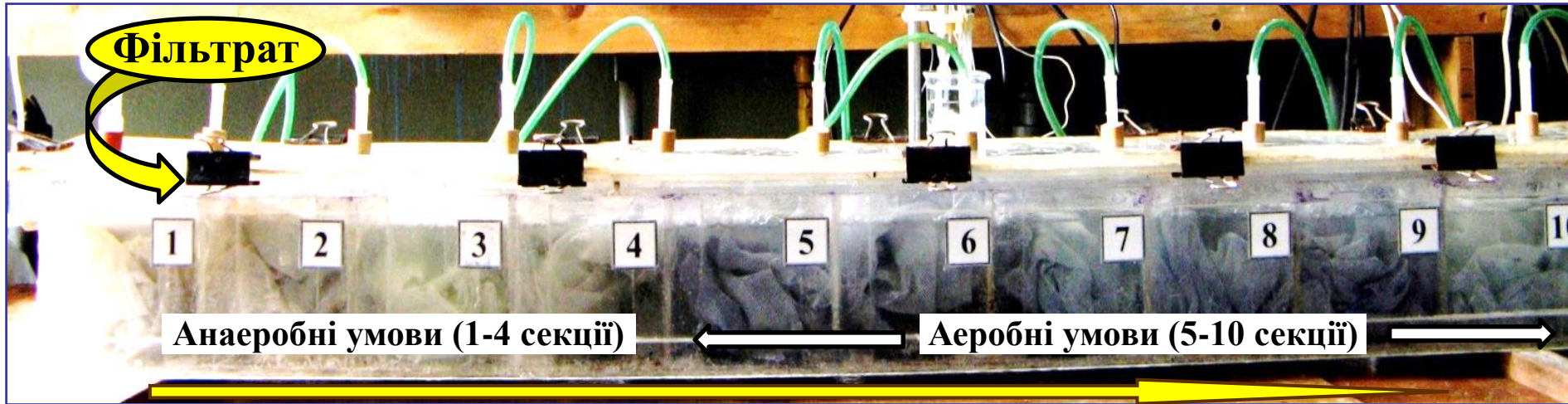


Моделювання зброджування відходів у звалищах

Kd	20	Вихід H₂	27 л/кг відходів
T	14 діб	Вихід CH₄	12 л/кг відходів

У звалищах за 30 років зменшення об'єму у 2 рази!





Напрямок потоку фільтрату та просторової сукцесії

Просторова сукцесія та харчові ланцюги в екосистемі аеротенку

Секції: 1 - 4

5 - 8

5 - 7

5 - 7

5 - 10



Копеотрофні бактерії



Оліготрофні бактерії



Infusoria



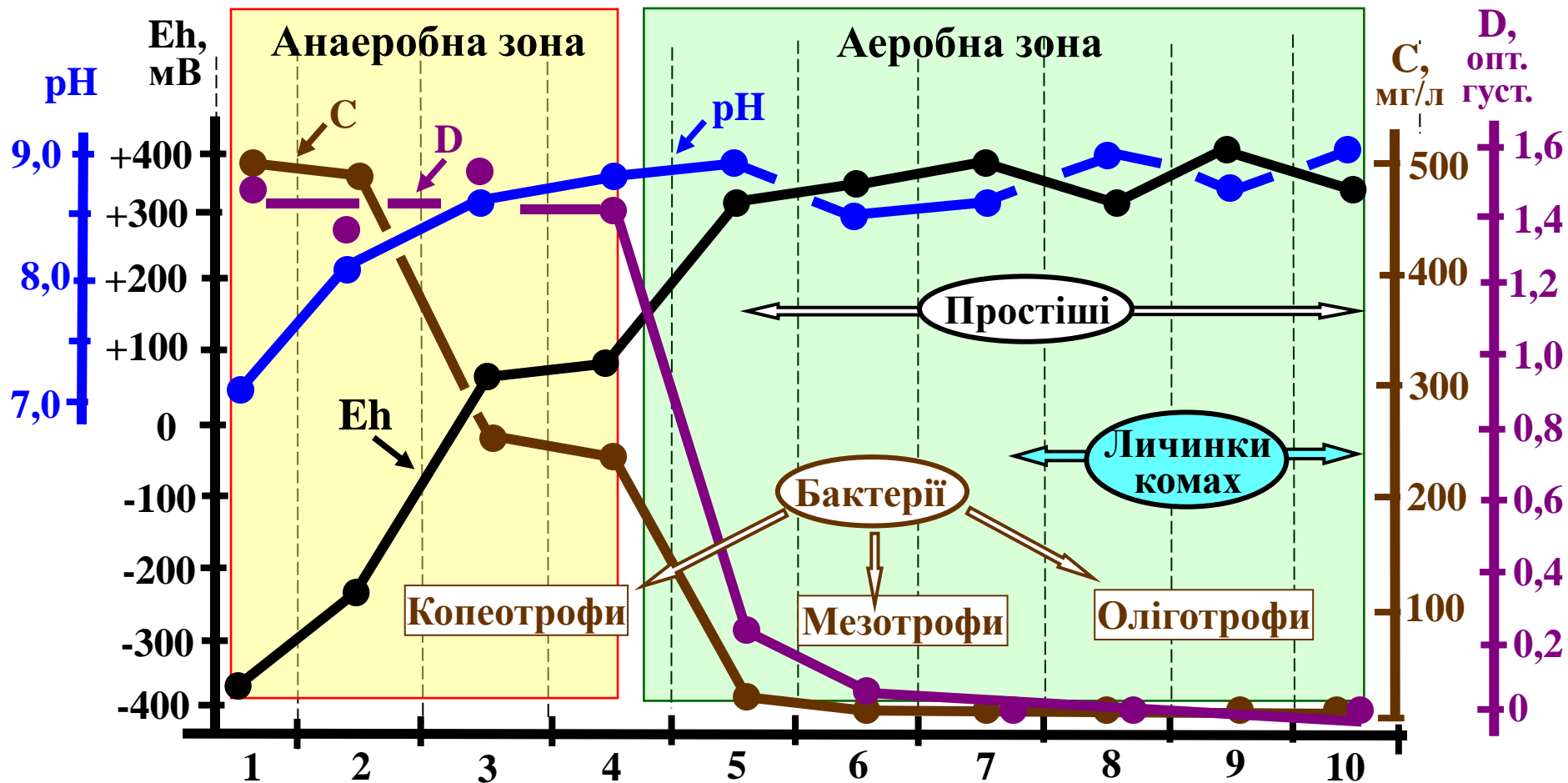
Rotifera



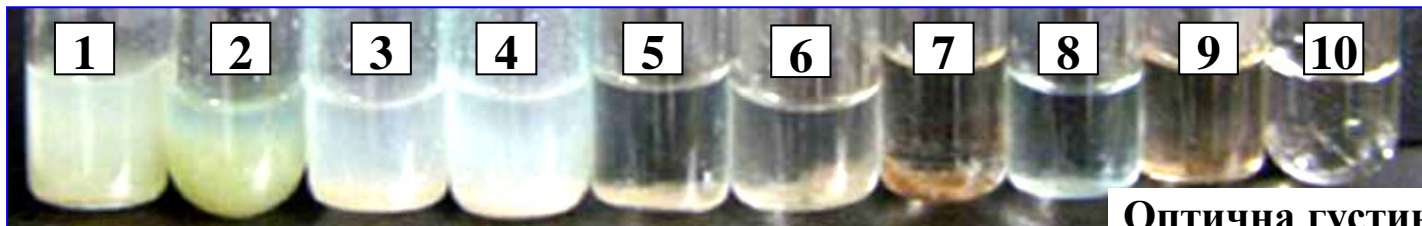
Личинки комах

Напрямок сукцесії →

Закономірності просторової сукцесії в екосистемі аеротенку

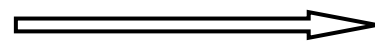


Секції модуля (1 - 10)



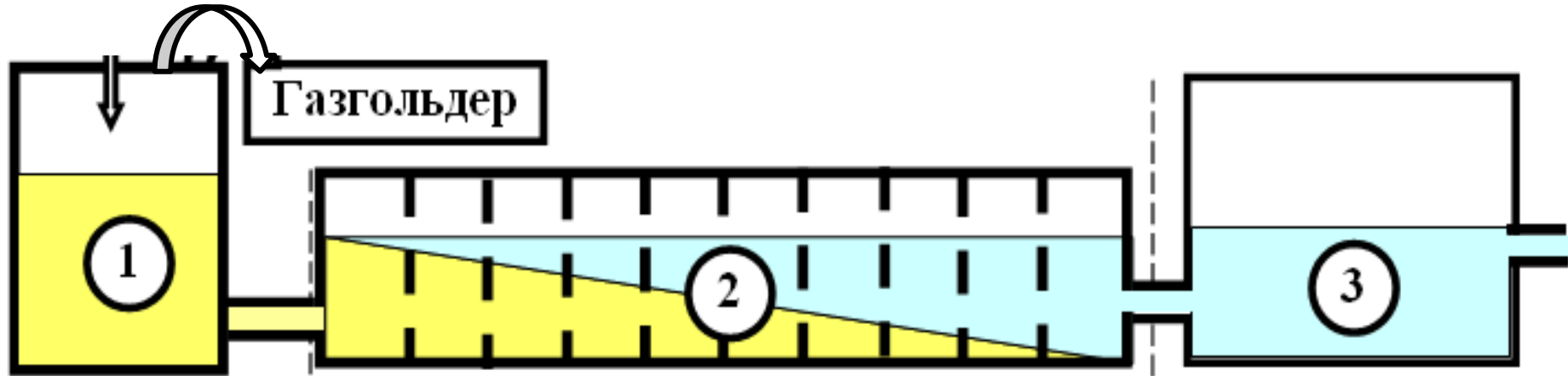
Оптична густина (стік)

Напрямок потоку фільтрату



Універсальна Біотехнологія отримання корисних продуктів та чистої води за знешкодження екологічно небезпечних відходів

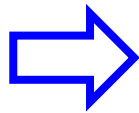
18



1. Анаеробний Біореактор



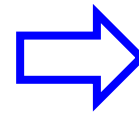
1. Деструкція твердих гниючих відходів
2. Синтез N_2



2. Аеробний модуль



1. Деструкція токсичних розчинних сполук
2. Очищення стоку від мікроорганізмів



3. Акваріум



1. Отримання чистої води
2. Вирощування риби (карпів)

Очищення стоків та екосистем від металів

Кліфи Мертвого моря



Кліфи Екватору



Печера Атлантида



Кліфи, Антарктида

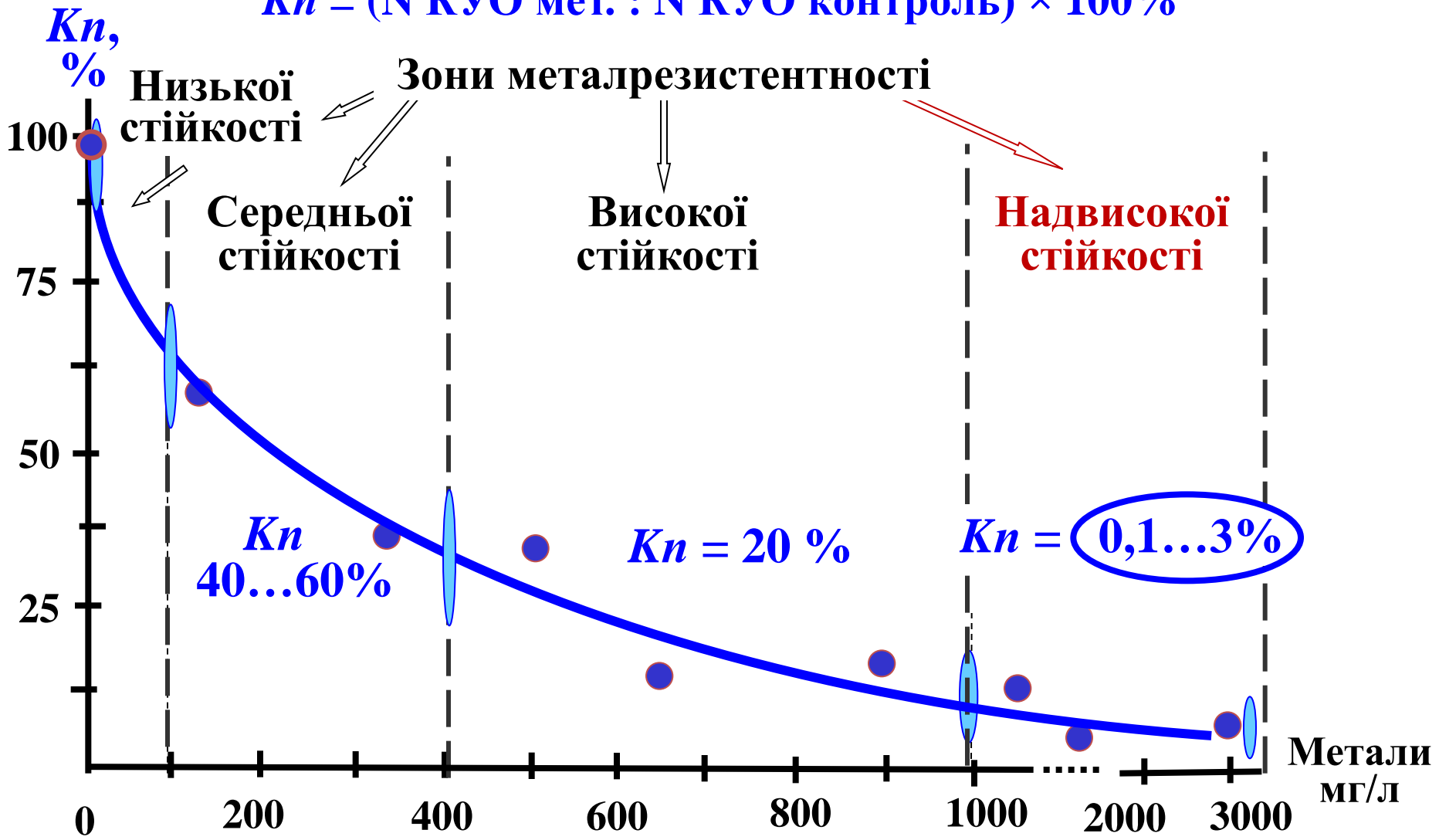


Україна



Модель металрезистентності мікроорганізмів у екосистемах (*Kn* – коефіцієнт поширення мікроорганізмів)

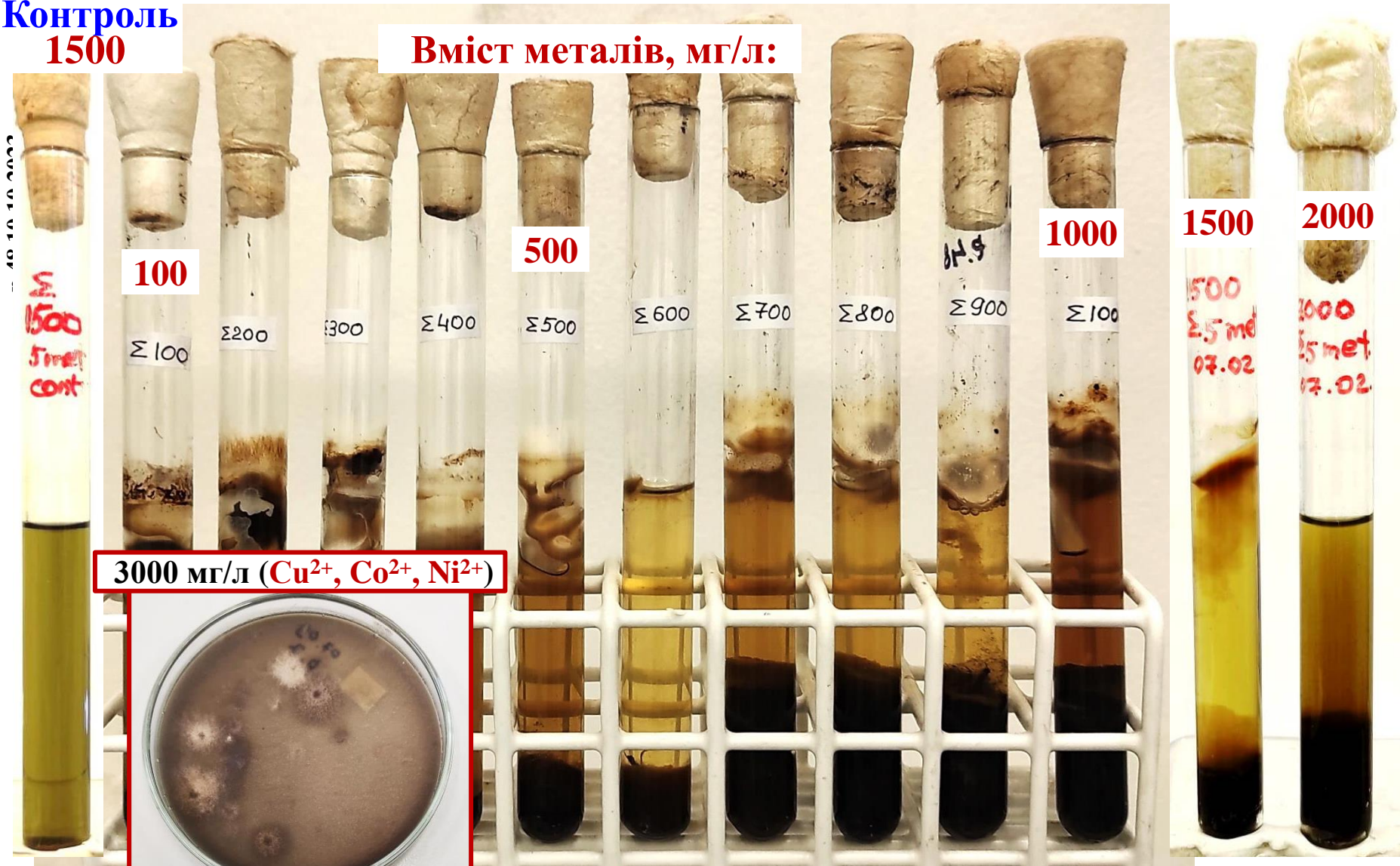
$$Kn = (N \text{ КУО мет.} : N \text{ КУО контроль}) \times 100\%$$



Гомеостаз: полірезистентність другого порядку за одночасної наявності 5 металів (Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+})

Контроль
1500

Вміст металів, мг/л:



3000 мг/л (Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+})

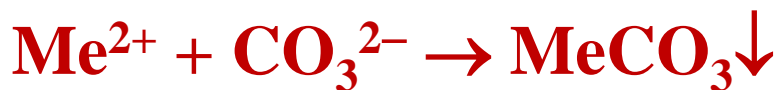


Інтегральні механізми взаємодії мікроорганізмів та рослин з металами

Репрезентативні метали: Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , CrO_4^{2-}

Іммобілізація:

Оборотна іммобілізація:

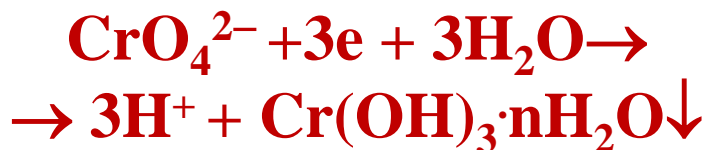
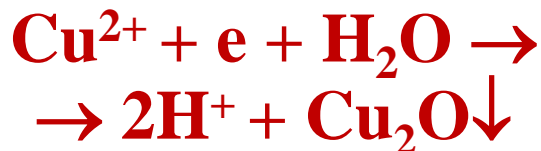
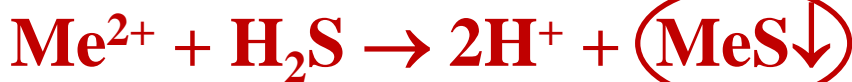


2H^+

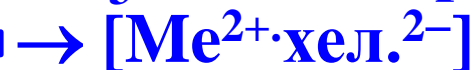


2OH^-

Незворотна іммобілізація:

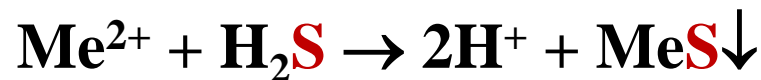


Мобілізація:

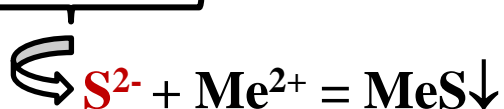


Транспорт розчинних сполук металів до рослин





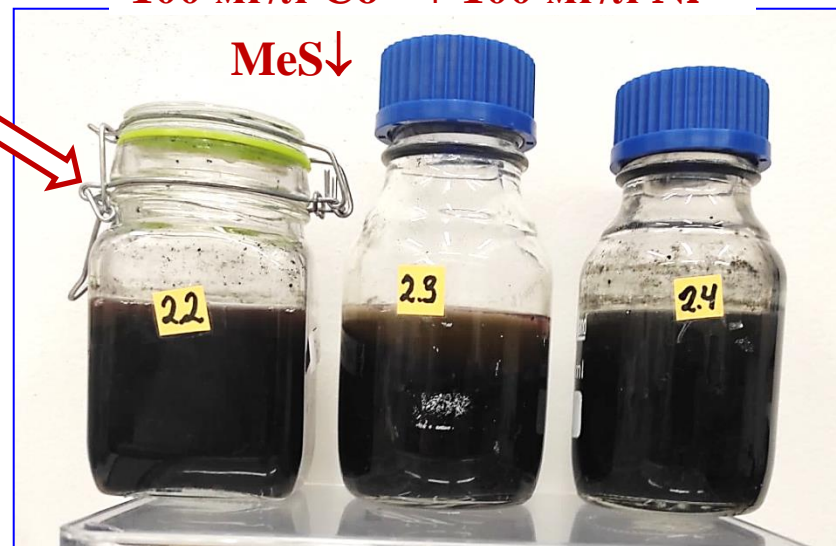
1. Диссиміляторна сульфатредукція:



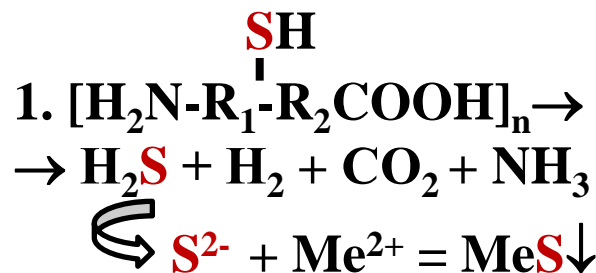
100 мг/л Co^{2+} + 100 мг/л Ni^{2+}



100 мг/л Co^{2+} + 100 мг/л Ni^{2+}

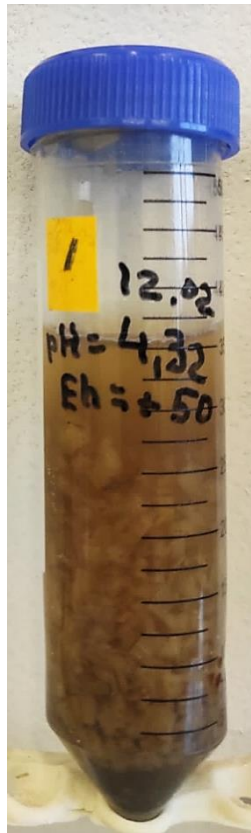


2. Гідроліз сірковмісних органічних сполук:



Докази незворотного сірководневого осадження металів

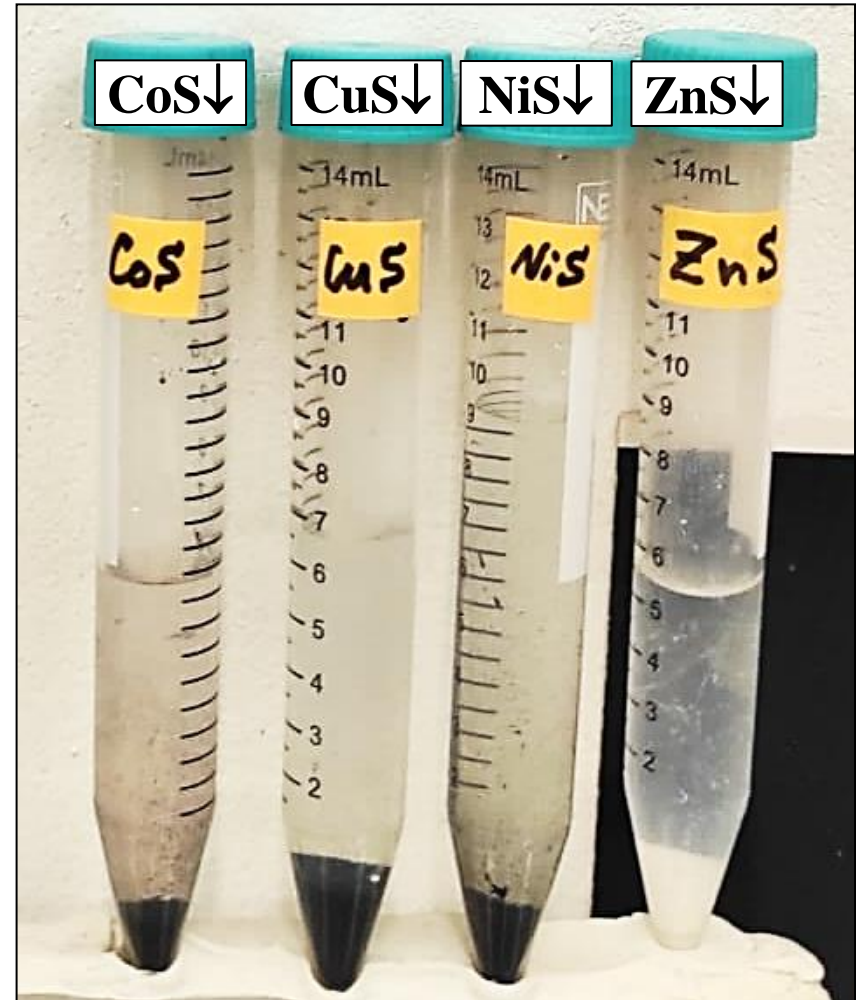
Ферментація глюкози, буряків, картоплі та ін.



Мінімальне
pH = 4,0

9% харчовий оцет
pH = 2,3

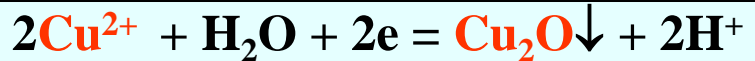
Сульфіди металів нерозчинні навіть у 0,1 М НСІ за pH = 1,3



Незворотне осадження: $Cu^{2+} + e + H_2O \rightarrow 2H^+ + Cu_2O \downarrow$

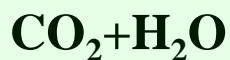
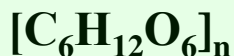
Очищення стічної води від Cu^{2+} у проточній установці

Джерело вуглецю та енергії – овочеві відходи (гнила картопля)



Зменшення концентрації Cu^{2+} у 3250 разів

Картопля



2e



1. Деструкція небезпечних відходів

2. Очищення токсичної стічної води

3. Отримання концентрату Cu_2O та $(CuOH)$

4. Отримання технічно чистої води

Напрямок руху стічної води

Номера секцій:

9

8

7

6

5

4

3

2

1

0,1

5,0

30

98

125

150

220

270

325

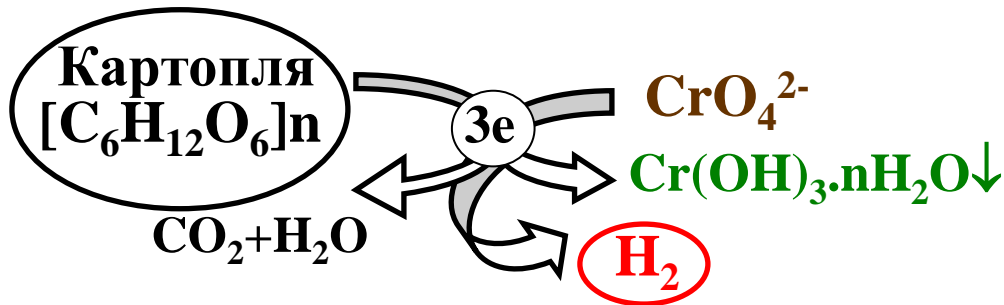
Гradient Cu^{2+} , мг/л

Незворотне відновлення та осадження металів



Комбінована реакція: деструкція картоплі, синтез H_2 та відновлення хроматів за концентрації 1000 мг/л Cr(VI)

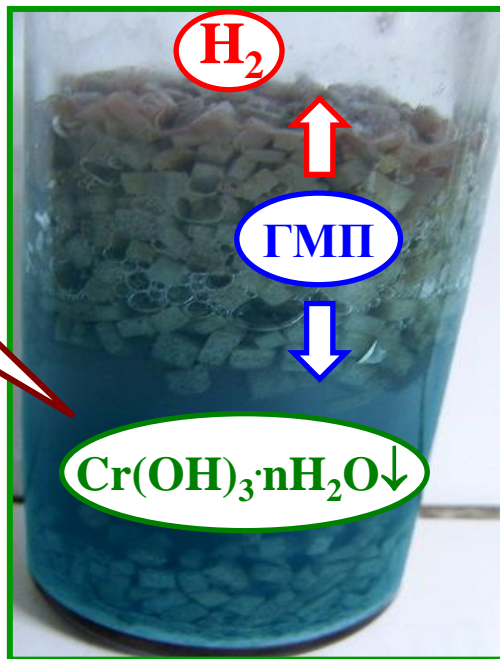
Відходи:



Позитивні ефекти:

1. Утилізація твердих відходів
2. Синтез водню
3. Очищення стоку від хромату
4. Концентрат Cr(OH)₃·nH₂O↓
5. Технічна чиста оборотна вода

Час – 21 доба



Ріст штамів за 1000 мг/л Cr(VI)



Товарний продукт - абразив Cr_2O_3 з осаджених на ГМП нерозчинних сполук хрому $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

Подвійний позитивний ефект:

- 1. Спалювання мікробної біомаси з отриманням абразиву - кристалічного Cr_2O_3
- 2. Зменшення об'єму біомаси у 3-5 разів

1 – до спалювання, 2 – після спалювання



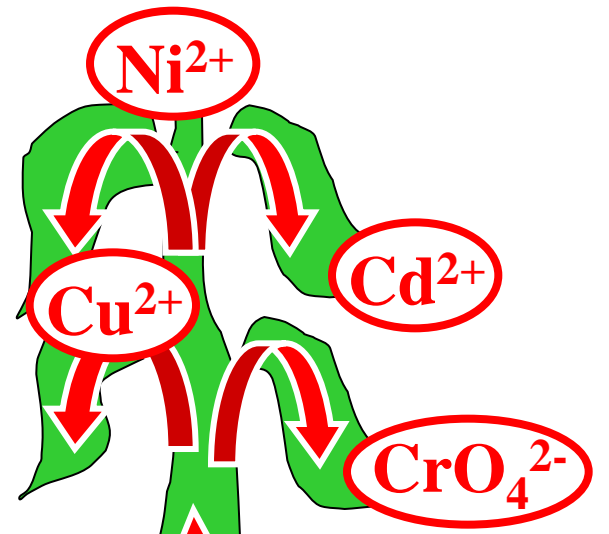
Кристалічний Cr_2O_3

Акумуляція металів рослинами (стереохімічна аналогія металів та макроелементів)

Cd²⁺, Ca²⁺ IP = 0,10 nm
Ni²⁺, Cu²⁺, Mg²⁺ IP = 0,075 nm
CrO₄²⁻, SO₄²⁻ IP = 0,300 nm

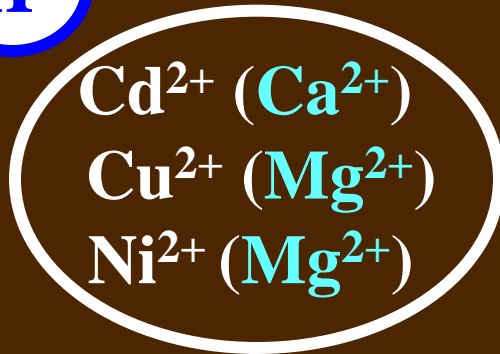
IP – іонний радіус іонів

Регулятори мікробного метаболізму

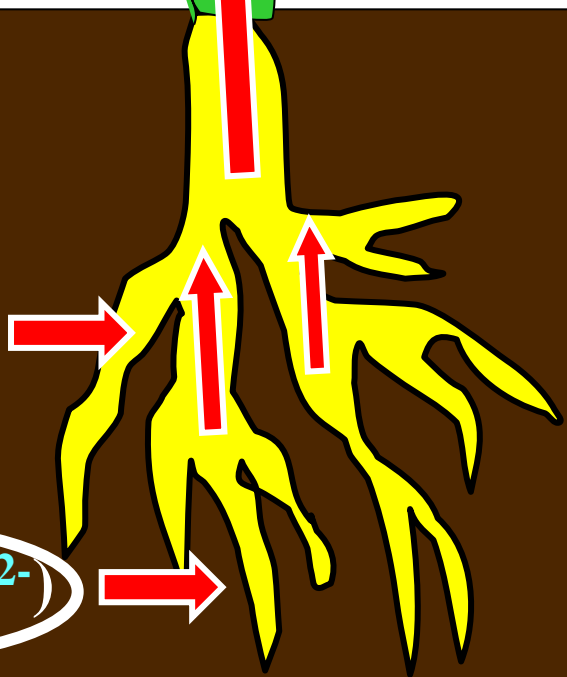
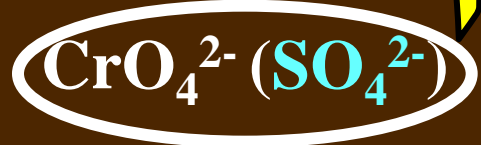


Нерозчинні

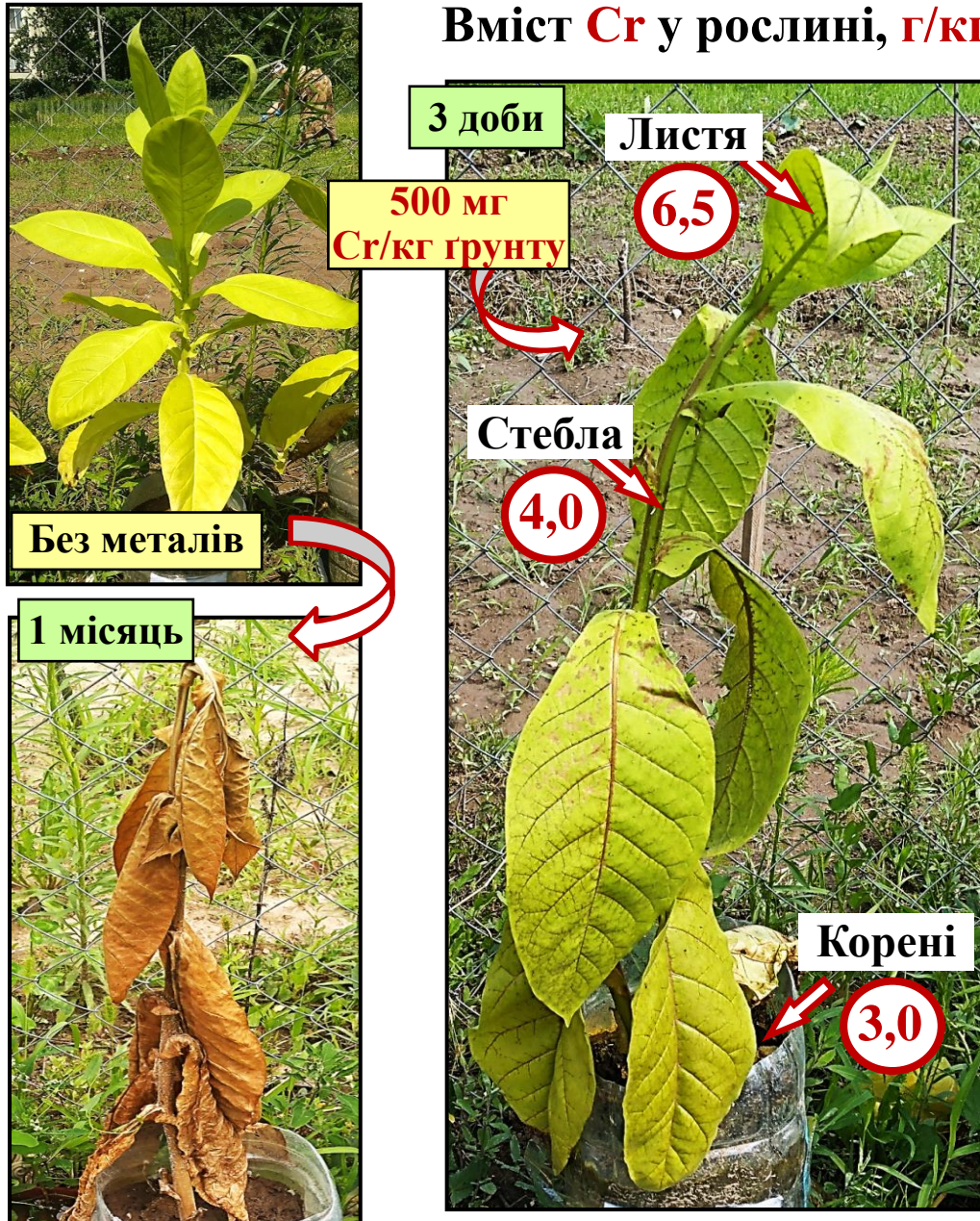
Розчинні



Обернена реакція



Вміст Cr у рослині, г/кг

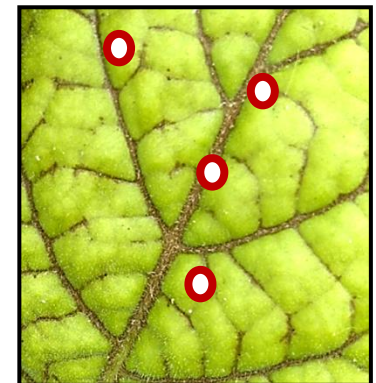


Локалітети металів у листі на 3 добу

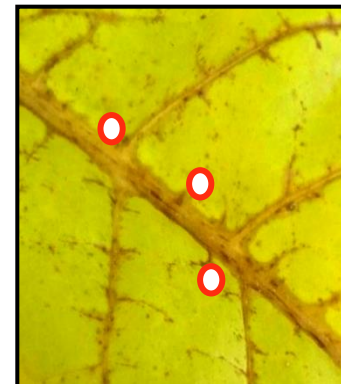
300 та 500 – концентрація металів, внесених у ґрунт



300 мг $\text{Cu}^{2+}/\text{кг}$



500 мг $\text{Cd}^{2+}/\text{кг}$



500 мг/кг Ni^{2+}



500 мг/кг Cr(VI)

Біоремедіація екосистем забруднених гниючими органічними сполуками («Каховка» та ін.)



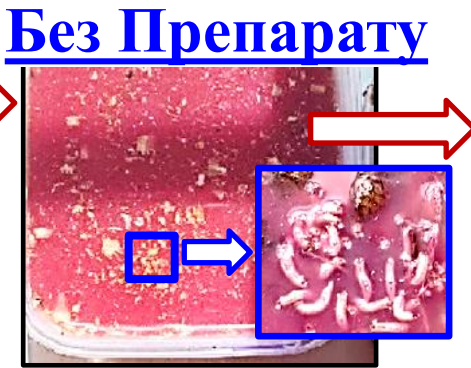
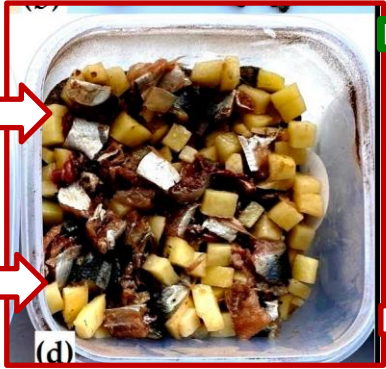
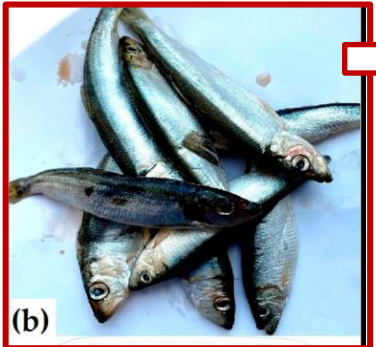
ГМП +



Na[AlSi₂O₆]·H₂O
АНАЛЬЦИМ

⇒ Бінарний Препарат для швидкої деструкції гниючих відходів та біоремедіації ґрунтів

Високодисперсний кремнезему для оптимізації структури ґрунтів.



1,4-нітрохлорбензол (НХБ)

Токсична дія на мікроорганізми:

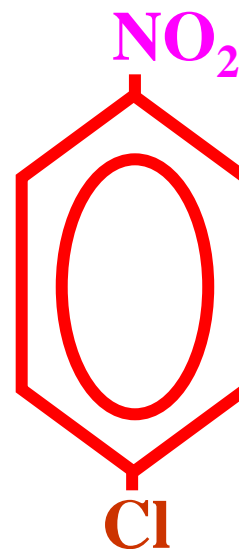
Блокування ферментів

Мутагенний ефект



Бактерицидний ефект – за 5-10 мг/л

Токсична нітро-органічна група



Токсичне ароматичне кільце

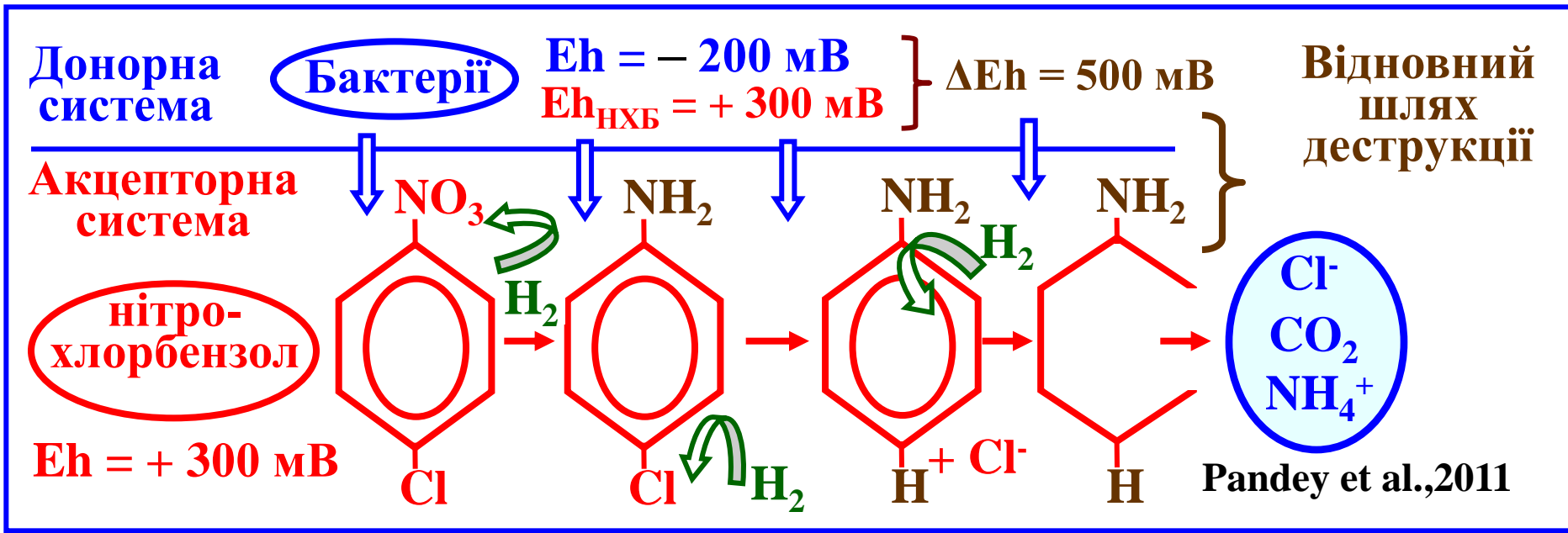
Токсична хлор-органічна група

Два типи відповіді на НХБ:

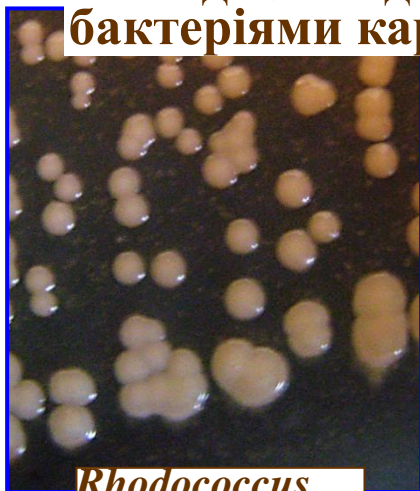
1. Повне пригнічення росту (Liu et al. [2011](#))
2. Використання НХБ як джерела вуглецю та енергії після підготовчого метаболізму (Schenzle et al., [1999](#))



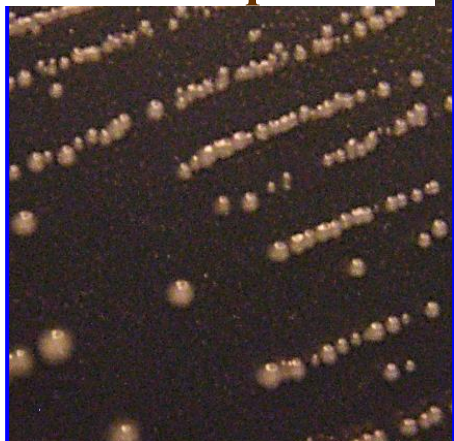
Нами застосовано ТД-прогноз неспецифічної відновної деструкції НХБ



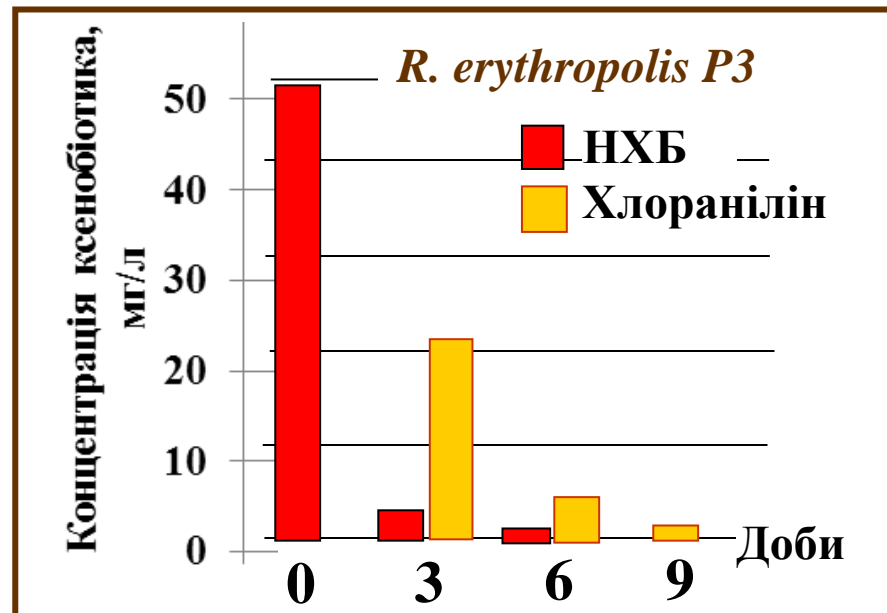
Відновна деградація НХБ бактеріями карстових порожнин



Rhodococcus erythropolis P3



Arthrobacter oryzae P11



На підставі Термодинамічного Прогнозу та теорії акад. В.І.Вернадського розроблено стратегічні підходи:

- Знешкодження:

- Широкого спектру екологічно-небезпечних твердих та рідких органічних відходів (природних та синтетичних)
- Широкого спектру токсичних металів у стічних водах і у природних екосистемах (грунти та ін.)

- Отримання корисних продуктів з усіх видів відходів:

- Енергоносіїв – H_2 , CH_4 та твердого палива
- Біодобрив
- Концентрату металів та товарних продуктів (Cr_2O_3 крист.)
- Очищеної води
- та навіть риби

Гранти за останні 8 років: 3 національні, 7 - міжнародних 35

1. 2015-2017 р. - спільний українсько-індійський дослідницький проект років 2015-2017: „*Development of microbial technology for accelerated multi-component municipal organic waste recycling*”, No M/82-2015 (22.10.2015), M/79-2016 (25.07.2016), M/173-2017 (08.09.2017).
2. 2015-2017 р. - дослідницький грант, співфінансований фондами U.S. Civilian Research and Development Foundation (CRDF Global) та Міністерством освіти і науки України: „*Organization of industrial microbial preparation to obtain energy sources from organic waste*”, No M/83-2015 (22.10.2015), M/80-2016 (25.07.2016), M/216-2017 (27.11.2017).
3. 2016-2018 - науковий грант цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України „ Основні аспекти відновлюваних джерел водневої енергії та технології паливних елементів”: „*Development of regime molecular hydrogen obtaining with maximum destruction of food waste, national project*”, No 2–16 (10.06.2016), 2–17 (01.03.2017), 2–18 (01.03.2018).
4. 2017-2018 - дослідницький грант, фінансований фондами U.S. Civilian Research and Development Foundation (CRDF Global): „*Transcriptomic responses of beneficial rhizobacteria to root exudates and environmental pollutants*”, No OISE-16-62773-0 (22.12.2016).
5. 2018 - науковий грант цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України „ Основні аспекти відновлюваних джерел водневої енергії та технології паливних елементів”: „*Development of a universal installation for the production of biohydrogen from multicomponent organic waste*”, No 2–18 (03.09.2018).
6. 2019-2020 - дослідницький грант, фінансований фондами U.S. Civilian Research and Development Foundation (CRDF Global): „*Characterization and optimization of microbial preparation for the production of hydrogen gas from ecologically hazardous food waste*”, No FSA3-19-65807-0 (07.11.2019).
7. 2020 - науково-технічний проект установи НАН України в року 2020: „*Development of the method of accelerated bioremediation of landfills of household organic waste with the production of biofuel*”, No 06.28 (03.02.2020).
8. 2019-2021 - науковий грант цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України „ Розробка наукових засад отримання, зберігання та використання водню в системах автономного енергопостачання”: „*Obtaining of engineering and technological indicators of experimental-industrial technology of biohydrogen synthesis*”, No 1–19 (03.06.2019), 1–20 (10.03.20), 1–21 (09.03.21).
9. 2022 - дослідницький грант, фінансований Програмою Фундації Костюшка “Freedom starts with your mind” 2022: „*Treatment of solid and liquid organic waste with obtaining of energy and valuable products*”, No 2022/04/06.
10. 2023-2024 - Granty Interwencyjne NAWA “Detoksykacja mikrobiologiczna metali toksycznych w glebie zanieczyszczonej działaniami bojowymi”, Польща – BPN/GIN/2023/1/00028/U/00001.
11. 2024-2025 - дослідницький грант, фінансований Програмою спільних дослідницьких проектів NAWA між Республікою Польща та Словаччиною: „*Reakcja mikroorganizmów na fitosyntetyzowane nanocząstki metali*”, No BPN/BSK/2023/1/00027/U/00001.



Відділ біології
екстремофільних мікроорганізмів

ДЯКУЄМО ЗА УВАГУ!