

**ВИЛУЧЕННЯ ЛІПІДІВ З БІОМАСИ АКТИВНОГО МУЛУ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА БІОПЛАСТИКА****А. В. Пасенко, Т. С. Письменнікова, О. І. Карлик, О. В. Новохатько, О. В. Мазницька**

Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського

вул. Першотравнева, 20, м. Кременчук, 39600, Україна. E-mail: pasenko2000@ukr.net

Обґрунтовано використання надлишкового активного мулу як субстрату біотехнології отримання біопластику, проведено експериментальне вилучення ліпідів з біомаси активного мулу для отримання ліпідної фракції як альтернативної сировини щодо виробництва пластику. При отриманні ліпідного субстрату з мулових відходів біоочищення стічних вод з метою збільшення виходу ліпідів запропоновано використовувати суміш активного мулу з ціанобактеріями, що вилучають з води евтрофованих водойм. Еколого-економічні переваги запропонованого технологічного рішення щодо використання активного мулу як біосубстрату в технології біопластику полягають у реалізації комплексної екологічно безпечної безвідходної переробки мулу та можливості заміни традиційної сировини в технології синтетичного пластику на альтернативне джерело ліпідної фракції у виробництві біопластику. Кількісне визначення загальної фракції ліпідів при вилученні з біомаси надлишкового активного мулу та із суміші активного мулу з ціанобактеріями доцільно проводити екстракцією за методом Фолча. Математична обробка, а саме комплексний статистичний аналіз експериментальних даних, що проведений з використанням пакету Analysis of variance, підтвердив практичну точність досліджуваних показників кількісного складу ліпідів у біосубстраті при застосуванні вказаного методу.

**Ключові слова:** біопластик, ліпіди, біомаса, активний мул, ціанобактерії, екстракція, метод Фолча**ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПИДОВ ИЗ АКТИВНОГО ИЛА ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОПЛАСТИКА****А. В. Пасенко, Т. С. Письменникова, Е. И. Карлик, О. В. Новохатько, О. В. Мазницкая**

Кременчугский национальный университет имени Михаила Остроградского

ул. Первомайская, 20, г. Кременчуг, 39600, Украина. E-mail: pasenko2000@ukr.net

В работе обосновано использование избыточного активного ила как субстрата биотехнологии по получению биопластика, проведено экспериментальное извлечение липидов из биомассы активного ила для получения липидной фракции как альтернативного сырья производства пластика. При получении липидного субстрата с иловых отходов биоочистки сточных вод с целью увеличения выхода липидов предложено использовать смесь активного ила с цианобактериями, которые изымают из воды эвтрофированных водоемов. Эколого-экономические преимущества предложенного технологического решения по использованию активного ила как биосубстрата в технологии биопластика заключаются в реализации комплексной экологически безопасной безотходной переработки ила и возможности замены традиционного сырья в технологии синтетического пластика на альтернативный источник липидной фракции в производстве биопластика. Количественное определение общей фракции липидов при извлечении из биомассы избыточного активного ила и из смеси активного ила с цианобактериями целесообразно проводить экстракцией по методу Фолча. Математическая обработка, а именно комплексный статистический анализ экспериментальных данных, проведенный с использованием пакета Analysis of variance, подтвердил практическую точность исследуемых показателей количественного состава липидов в биосубстрате при применении указанного метода.

**Ключевые слова:** биопластик, липиды, биомасса, активный ил, цианобактерии, экстракция, метод Фолча.

**АКТУАЛЬНІСТЬ РОБОТИ.** Інноваційні біологічні технології отримання енергії, хімічних сполук з макроорґанічними зв'язками з відновлюваних джерел, а саме з біомаси організмів – це альтернатива для енергобезпечного зростання та удосконалення промислового сектору країни. Полімерні сполуки для багатотоннажного хімічного виробництва пластику отримують з вуглеводнів нафти або природного газу. Вказана технологія виробництва пластику потребує витрат великої кількості горючих речовин та продукує значні обсяги парникових газів. Виробничий цикл синтетичного пластику значною мірою негативно впливає на екологічний стан навколишнього середовища. Ці екологічні впливи значно нижчі при виробництві біополімерів (біопластику). На сьогодні сумарний загальносвітовий обсяг випуску, наприклад, поліетиленових пакетів в середньому становить понад 5 трильйонів штук на рік. Кожен мешканець Євросоюзу щороку використовує приблизно півтисячі пластикових пакунків і більшість з них вживає лише один раз. Таким чином, частина майже 3,5 мільйон тонн поліетиленових

пакетів, що виробляються щороку в ЄС, врешті-решт опиняється у водоймах, річках, морях або просто на узбіччях доріг. Для біодеградації одного поліетиленового пакету необхідно близько 15 років, пластикової тари – близько 300 років, в той же час на розклад біопластику знадобиться лише 1–2 роки [1]. Таким чином, для впровадження більш екологічно доцільною є технологія виробництва біопластику і, насамперед, з відновлювального біосубстрату – відпрацьованої біомаси організмів. Узагалі, в природному середовищі, де усе взаємопов'язано, одна екологічна проблема переходить в іншу, і це, в свою чергу, формує цілий комплекс екологічних порушень в екосистемі, що прямо чи опосередковано впливає на кожний організм певного екоотопу. Зменшуючи негативний вплив на стан оточуючого довкілля, можна максимально досягти нормалізації екологічних показників території не тільки окремої країни, а й цілого регіону. Україна має значний потенціал для заміни у виробничих циклах невідновлювальних джерел енергії, сировини (нафти, газу) відновлювальними, що є вкрай актуальним для на-

шої держави з економічної та екологічної точок зору. Слід зазначити, що в якості субстрату для виробництва біопластику у світовій практиці найчастіше використовують кукурудзу, картопляний крохмаль. Перспективним напрямком є використання органічних відходів в якості субстрату для виробництва біопластику. У багатьох містах країни на міських очисних станціях після механічного й біологічного очищення стічних вод утворюється значна кількість відходів – осадів стічних вод і саме надлишкового активного мулу, який є цінним біосубстратом. Технологія переробки даного відходу передбачає висушування надлишкового активного мулу на мулових майданчиках для подальшого зберігання або утилізації [2].

Як біосубстрат біомаса надлишкового активного мулу на 70–80 % складається зі сполук з макроергічними хімічними зв'язками – ліпідів, білків та вуглеводів, які можна екстрагувати та використовувати в якості відновлювального сировинного джерела у промислових виробничих циклах [3]. Тому класична схема поводження з осадами стічних вод зі складуванням їх на мулових майданчиках не є раціональною і потребує подальшого вдосконалення, а саме пошуку екологічно безпечних шляхів утилізації вказаних відходів.

Метою даної роботи є розгляд активного мулу як субстрату біотехнології, вилучення ліпідів з біомаси надлишкового активного мулу для отримання ліпідної фракції щодо виробництва біопластику. Вилученні таким чином з активного мулу ліпіди можуть слугувати альтернативною сировиною щодо заміни технології синтетичного пластику виробництвом біопластику.

**МАТЕРІАЛ І РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.** Активний мул – це біоценоз очисних споруд аеробного біологічного очищення стічних вод, в основу якого покладено природні процеси самоочищення у водному середовищі. В аеротенку реалізуються біохімічні процеси – складові біологічного колообігу речовин, що включають утилізацію, трансформацію та мінералізацію органічних речовин. Аеробна ферментація стоків з органічними забруднюючими речовинами здійснюється специфічним комплексом – біомасою активного мулу, що складається з мікроорганізмів (бактерій, найпростіших та ін. організмів). Процес очищення стічних вод перебігає за оптимальних умов культивування: температури, тиску, наявності достатньої кількості необхідних поживних речовин, що сприяє біосинтезу та підвищеному вмісту ліпідної фракції у клітинах біомаси активного мулу. При переробці кожних 1000 м<sup>3</sup> стічних вод утворюється до 300 дм<sup>3</sup> зневодненого надлишкового активного мулу (80 % вологості) [3]. У світовому масштабі щорічний приріст активного мулу досягає декілька десятків мільйонів тон (у перерахунку на масу сухої речовини).

Екологічна проблема утилізації надлишкового активного мулу полягає у можливому накопиченні важких металів у складі клітин його організмів, високій вологості мулу, наявності патогенних мікроорганізмів, негативного впливу на ґрунтове середовище, підземні води та атмосферне повітря, виді-

ленні неприємного запаху під час гниття мулу на мулових майданчиках. Адсорбовані й накопичені активним мулом забруднюючі речовини можуть мігрувати у ґрунт, підземні води і, спричинюючи забруднення середовища, викликати ряд негативних екологічних наслідків під час зберігання мулу на мулових майданчиках. Тому розроблений цілий ряд схем комплексної переробки надлишкового активного мулу з вилученням з його біомаси цінних компонентів для подальшого застосування у виробничих циклах [4]. Це дозволить суттєво знизити антропогенне навантаження на довкілля та зменшити витрати традиційної сировини у виробництві промислової продукції.

Перспективним продуктом комплексної переробки надлишкового активного мулу є біопластик, який у роботі за результатами проведеного аналізу попередніх розробок [4, 5] рекомендовано отримувати з ліпідів шляхом їх вилучення із біомаси активного мулу методом екстракції. Запропонована технологія знаходиться на стадії розробки. Результати виділення ліпідної фракції з біомаси активного мулу значною мірою залежать від реагенту при екстрагуванні та фізіологічного стану клітин надлишкового активного мулу.

Обраний у технології виробництва біопластику активний мул як біосубстрат-сировина для екстракції ліпідів має певні переваги. По-перше, кількісний і якісний склад біомаси надлишкового активного мулу свідчить про складну екосистему аеротенка, до складу біоценозу якої входить велика кількість представників мікрофлори і мікрофауни: нитчасті бактерії, гіфи водних грибів, дріжджі, джгутикові, саркодієві, інфузорії, коловертки, водні черви та у невеликих кількостях інші багатоклітинні безхребетні (водяні кліщі, гастротрихи тощо) [3]. Активний мул на 95 % відсотків складається з прокаріотів, клітини яких містять включення, що виконують роль запасної речовини, у тому числі, наприклад, ліпіди [4]. Домінуючі представники активного мулу представлені на рис 1. По-друге, перевагою даного субстрату (біомаси) є його продуктивність. Енергетичний потенціал біомаси активного мулу набагато більший, ніж будь-якої сільськогосподарської культури. Метаболічна активність активного мулу зумовлена спроможністю мікроорганізмів родин *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas* та ін. організмів активно використовувати для живлення органічні речовини – доступні форми Нітрогену, Фосфору, Калію різних сполук, що містяться у стічних водах. У процесі живлення мікроорганізми одержують біоматеріал для побудови свого тіла, внаслідок чого відбувається приріст маси активного мулу [6]. Представники надлишкового активного мулу аеротенків характеризуються високим коефіцієнтом корисної дії (ККД) споживання органічних забруднень у процесі біоочищення стічних вод. При цьому практично не відбувається втрати біомаси. Приріст біомаси прямо пропорціональний певній питомій швидкості окислення субстрату [7]. Клітини мікроорганізмів синтезують відновлювану біоенергетичну сировину – ліпіди (фосфоліпіди), які за допомогою стандартних біотехнологічних процесів

можуть бути перероблені у біопластик [8]. Загальний вміст ліпідів, а саме фосfolіпідів, у клітинах біомаси надлишкового активного мулу коливається у діапазоні від 20 % до 30 % від маси сухої речовини [6]. Кількість та якісний склад та вихід ліпідів у значній мірі залежать від умов технологічного процесу культивування мікроорганізмів, у тому числі активного мулу. Очищення стічних вод відбувається за оптимальних умов. Температура до 25 °С, тиск, підвищений вміст поживних речовин сприяють швидкому приросту біомаси, накопиченню мікроорганізмами запасних речовин –ліпідів.

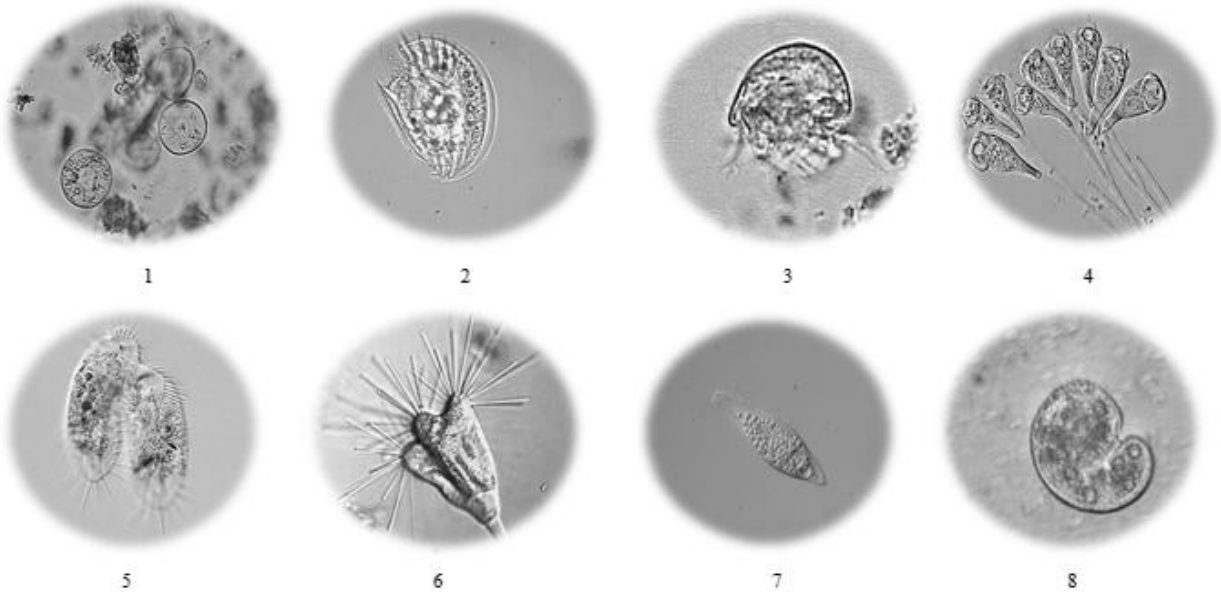


Рисунок 1 – Біоценоз активного мулу: 1 – *Arcella discoides*; 2 – *Aspidisca turrida*; 3 – *Opercularia glomerata*; 4 – *Epistylis plicatilis*; 5 – *Oxytricha pellionella*; 6 – *Tokophrya lemnae*; 7 – *Litonotus lamella*; 8 – *Colpoda steini*.

Хімічний склад клітин приблизно однаковий у всіх організмів. Клітини прокаріот містять від 70 до 90 % води. Основну масу сухої речовини, на частку якої припадає решта 10–30 %, складають білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди та полісахариди. Кілька відсотків сухої речовини клітин припадає на низькомолекулярні органічні речовини та солі.

Ліпіди в клітинах прокаріот локалізуються, головним чином, у клітинних мембранах, клітинній стінці та у вигляді включень у прокаріотній клітині, як запасна речовина на випадок негативних змін у навколишньому середовищі. Ліпіди є компонентом пігментних систем і ланцюгів електронного транспорту.

Хімічний склад білково-ліпідного цитоплазматичного мембранного комплексу: білки складають 50–75 %, ліпіди – від 15 до 45 %. Головним ліпідним компонентом клітинної мембрани біоагентів активного мулу є фосfolіпіди – похідні 3-фосфогліцерина. Широко представлені в бактеріальних мембранах і різні гліколіпіди. Стерини відсутні у переважній більшості прокаріот. У складі мембранних ліпідів прокаріот знаходяться кислоти, що не зустрічаються, як правило, в мембранах еукаріотних клітин. До цих кислот належать циклопропанові жирні кислоти, які містять одне або більше тричленних кільця, що приєднуються уздовж вугле-

Ліпіди є похідними гліцерину, отже містять один або кілька залишків жирних кислот, склад яких у прокаріотів достатньо специфічний. Основу складають насичені або мононенасичені жирні кислоти з 16–18-карбонними атомами. Поліненасичені жирні кислоти ліпідної фракції у прокаріотних клітин відсутні [4, 9]. Жири містяться у плазматичних мембранах усіх живих клітин. Бактеріальні мембрани побудовані набагато простіше, ніж мембрани еукаріотних клітин. Однак відомо, що бактерії крім фосfolіпідів містять дуже багато різноманітних ліпідів. До них відносяться сфінголіпіди, нейтральні ліпіди.

водневого ланцюга. Рідко зустрічаються і переважно виявляються тільки у прокаріот розгалужені жирні кислоти з 15–17 карбонмісним ланцюгом. В усередненому варіанті вміст компонентів у клітинній мембрані більшості прокаріотів розподіляється наступним чином: білки – до 50 %, ліпіди – до 30 %, вуглеводи – до 20 % (з розрахунку на суху масу), для еукаріотів ці показники відповідно складають: білки – до 70–80 %, ліпіди – до 15–25 %, вуглеводи – до 5–15 %. Однак стосовно щодо структури різних мембран зазначені величини можуть сильно відрізнятися і, наприклад, на долю ліпідів може припадати до 50 % сухої маси мембранної фракції ендoplазматичного ретикулуму, який тісно зв'язаний з клітинною мембраною. А у складі мієлінових мембран вміст ліпідів може досягати до 80 %.

Ліпіди накопичуються у вигляді гранул, що різко заломлюють світло і тому добре помітні в світловому мікроскопі. Запасною речовиною такого роду є полімер β-оксимасляної кислоти, що накопичується у клітинах багатьох прокаріотів. У деяких бактерій, які окиснюють вуглеводні, полі-β-оксимасляна кислота становить до 70 % сухої речовини клітин. Відкладання ліпідів у клітинній стінці організмів активного мулу відбувається в умовах, коли середовище – стічна вода насичена сполуками Карбону і збідне-

на на сполуки Нітрогену. Ліпіди для клітин гідробіонтів слугують джерелом Карбону та енергії.

При отриманні ліпідного субстрату з мулових відходів біоочищення стічних вод з метою збільшення виходу ліпідів у роботі запропоновано використовувати суміш активного мулу з ціанобактеріями, які вилучають з води евтрофованих водойм. У ціанобактерій вміст ліпідів в клітинах може становити від 2 до 18 % від сухої речовини біомаси. Склад ліпідної фракції мікроводоростей значною мірою залежить від їх таксономічного положення. Так, кількісно головною жирною кислотою прокаріотичних ціанобактерій є пальмітинова (16:0). Довжина ацильних ланцюгів у гліцероліпідах ціанобактерій не перевищує 18 атомів Карбону, у цієї групи організмів також не було знайдено транс-3-гексадецену кислоту, що властива для фосфатидилгліцеролу хлоропластів еукаріот. На основі ліпідного складу ціанобактерій поділяють на 4 групи. Штами першої групи містять лише насичені та моноєнові жирні кислоти, а трьох інших – ще й полієнові: другої –  $\alpha$ -ліноленову (18:3n-3) і лінолеву (18:2n-6), третьої –  $\gamma$ -ліноленову (18:3n-6) і лінолеву, четвертої – стеарионову (18:4n-3), обидва види ліноленової та лінолеву. Тому цілком доцільно й рентабельно отримувати біосубстрат із суміші мулового відходу очисних споруд та біомаси продуцентів першого рівня трофічного ланцюга евтрофованих водойм, що забезпечить вагомий позитивний екологічний ефект щодо зниження антропогенного тиску на хімічний склад води та екологічну рівновагу гідроекосистем.

Для вилучення ліпідів з біомаси гідробіонтів застосовують різні методи екстракції. У світовій практиці метод екстракції ліпідів ґрунтується на використанні певних реагентів-сумішей, що містять метанол [4, 9]. Однак метанол є високотоксичною речовиною, і тому актуальним завданням є його заміна іншими екстрагентами. В якості екстрагентів ліпідів рекомендовано застосовувати ацетон, хлороформ, етанол. Спільною властивістю усіх ліпідів є їх нерозчинність у воді і розчинність в органічних розчинниках. Після біологічного очищення стічних вод залишковий активний мул містить близько 85 % води. Зазначений параметр досить важливий, тому що деякі реагенти не реагують у присутності води. За методикою при екстрагуванні ліпідів суміш активного мулу й екстрагенту вносять у герметично закриту скляну конічну колбу та встановлюють на «качалку» із швидкістю обертання приводу 180 об/хв. за температури 26 °С. Тривалість процесу екстрагування складає 45–50 хв. Розділення твердої і рідкої фази здійснюють методом фільтрації [4].

Ідентифікацію та кількісне визначення жирних кислот в складі екстрагованих ліпідів реалізують із застосуванням методу газової хроматографії. Зазначений метод широко використовують як серійний метод аналізу органічних сполук. В якості досліджуваної проби використовують розчин метилових

ефірів жирних кислот в гексані. Під час аналізу застосовують стандарти метилових ефірів жирних кислот. Для проведення кількісного аналізу використовують метод внутрішньої нормалізації, враховуючи площу максимуму усіх компонентів використаної проби на 100 %. Площа максимуму розраховується автоматично в програмі математичного аналізу. Спираючись на літературні дані встановлено, що загальний вміст ліпідів у клітинах активного мулу коливається у діапазоні 25,0–37,5 % за масою сухої речовини із середнім значенням 30,5 %. На основі літературних даних прогнозовано вміст ліпідів у біомасі активного мулу за складом жирних кислот. Набір жирних кислот у ліпідах мембран прокаріотів активного мулу залежить від умов культивування, складу стічних вод. Наприклад, у деяких представників активного мулу С15-жирна кислота з розгалуженим ланцюгом може становити до 90 % усіх жирних кислот ліпідів. Головна функція ліпідів – це підтримання механічної стабільності мембрани та надання їй гідрофобних властивостей, тому склад жирних кислот у мембрані переважно є сталим. Визначення вмісту жирних кислот при екстрагуванні ліпідів необхідно для розробки рекомендацій щодо можливих шляхів використання вилучених ліпідів. Фракційний склад жирних кислот у ліпідах активного мулу за даними газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот [4, 7] представлений на рис. 2. Позначення  $C_n$  – кількість атомів Карбону,  $m$  – кількість подвійних зв'язків у молекулі жирної кислоти.

За результатами газової хроматографії визначається вміст певних груп жирних кислот у ліпідах клітин організмів активного мулу як частини до загальної кількості кислот. За даними проведеного аналізу літературних джерел [4, 7] до складу надлишкового активного мулу входять 16 жирних кислот. Суттєва роль у складі ліпідів клітин належить п'ятьом жирним кислотам: пальмітиновій (С16:0) до 30 %, олеїновій (С18:1) – до 20 %, пальмітолеїновій (С16:1) – до 22 %, стеариновій (С18:0) – до 18 % і лінолевої (С18:2) – до 7 % кислот. На вміст інших жирних кислот ліпідної фракції клітин припадає до 3 %. [10, 11–13]. Склад жирних кислот активного мулу має схожість зі складом жирних кислот рослинних олій. Це є підґрунтям для рекомендації щодо застосування вилучених з активного мулу ліпідів в якості сировини для виробництва біополімерів.

Метод екстракції ліпідів з використанням суміші хлороформ-метанол, що розроблений у 1951 році групою вчених на чолі з Фолчем, є відносно швидким, ефективним та надійним. Метод дозволяє виділити 90–95 % усіх клітинних ліпідів. Ефективність екстракції ліпідів у значній мірі залежить від хімічної природи ліпідних компонентів та від будови комплексів, що утворюють у клітинах ліпіди з іншими класами природних сполук.

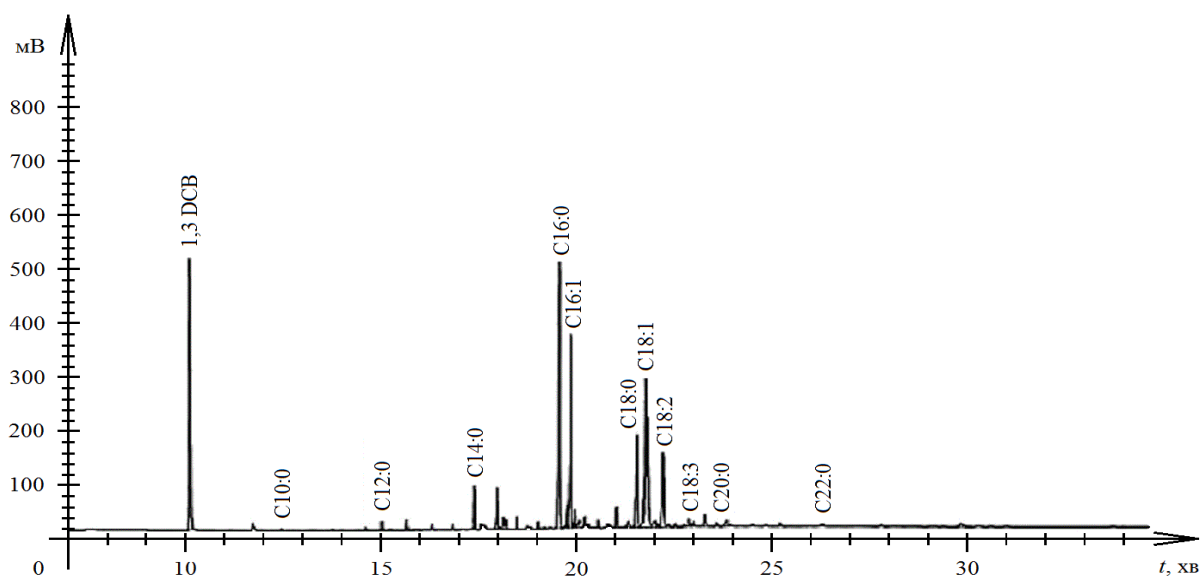


Рисунок 2 – Газова хроматографія метилових ефірів жирних кислот у складі ліпідів активного мулу

Відомо три основні типи взаємодії ліпідів з іншими речовинами:

1. Ван-дер-Ваальсова гідрофобна взаємодія «нейтральних» або непарних ліпідів, таких як ефірів стеринів, гліцеридів, вуглеводів, каротиноїдів, які зв'язують відносно слабкі нековалентні зв'язки їх вуглеводневих ланцюгів з іншими ліпідами або з гідрофобними ділянками білків. Така взаємодія здійснюється, зокрема, у жировій тканині, комплексах альбуміну з жирними кислотами та ін.

2. Утворення водневих зв'язків – електростатична або гідрофобна взаємодія, при якій полярні ліпіди (фосфати, гліколіпіди, холестерин) утворюють зв'язки з білками, подібні до тих, що спостерігаються у плазматичних мембранах, мітохондріях та ендоплазматичному ретикулумі.

3. Утворення комплексів, у яких жирні кислоти та оксикислоти зв'язані ковалентними зв'язками (складноєфірними, амідними або глікозидними) з полісахаридами.

Для отримання ліпідного субстрату з відходів з метою реалізації технології виробництва біопластику у роботі проведено вилучення з біомаси та визначена кількість ліпідів у надлишковому активному мулі аеротенків міської очисної станції та суміші активного мулу з ціанобактеріями. Ціанобактерії вилучали з води штучного водосховища у літній

період активного евтрофування водойми. Кількісне визначення загальної фракції ліпідів проводилося за методом Фолча [1]. Метод полягає в екстракції ліпідів хлороформ-метаноловою сумішшю (2:1), з подальшим відмиванням екстракту від водорозчинних домішок, висушуванням, визначенням кількості ліпідів (ліпідний залишок зважують на аналітичних вагах з точністю до 0,0001 г). У ході роботи за обраною методикою було проведено по шість експериментів з вилучення ліпідів з біомаси активного мулу та із суміші активного мулу з ціанобактеріями. Екстракцію ліпідів проводили у температурних режимах 25–35 °С. Підвищення температури проведення реакції екстрагування сприяє загальному виходу ліпідів, але разом з тим підвищення температури вище рекомендованої призводить до втрати ефективності роботи реагентів. За результатами проведених експериментів визначено, що вміст ліпідів становив для активного мулу в середньому 0,0041 г на 1 г сухої речовини та 0,0135 г – відповідно у суміші активного мулу з ціанобактеріями. Математичну обробку, а саме комплексного статистичного аналізу отриманих експериментальних даних у роботі проведено з використанням пакету Analysis of variance. Результати математичної обробки експериментальних даних наведено у табл. 1.

Таблиця 1 – Результати математичної обробки експериментальних даних

Кількість проведених дослідів, <i>n</i>	Середнє значення вибірки, г	Стандартне відхилення, <i>S</i>	Стандартне відхилення середнього арифметичного, <i>S<sub>x</sub></i>	Погрішність середнього результату аналізу, $\epsilon_{\alpha}$	Коефіцієнт нормованих відхилень, <i>t</i>
Активний мул					
6	0,0041	0,0008	0,0003	0,0009	2,78
Активний мул у суміші з ціанобактеріями					
6	0,0135	0,0022	0,0009	0,0024	2,78

Таким чином, при коефіцієнті нормованих відхилень  $t=2,78$  (за таблицею критичних значень  $t$ -критерія Стюдента ступінь свободи становить  $df=5$ , що відповідає рівню значущості  $p=0,05$ , тобто довіря імовірність дорівнює 0,95), підтверджується припустимість застосування методу Фолча для вилучення та кількісного визначення вмісту ліпідної фракції в біомасі надлишкового активного мулу та його суміші з ціанобактеріями. Отримана ліпідна фракція може бути використана в технології біопластику, а відпрацьована біомаса активного мулу – в різних галузях виробництва (сільське господарство, тваринництво, хімічна промисловість та ін.).

Взагалі, екстракцію ліпідів можна розглядати як одну зі стадій комплексної переробки надлишкового активного мулу [3–4, 6–7, 14–15], у тому числі з отриманням продукту – субстрату технології біопластику. Екологічна доцільність запропонованого у роботі біотехнологічного рішення щодо поводження з муловими відходами очисних споруд та біомасою продуцентів евтрофованих водойм полягає у суттєвому позитивному екологічному ефекті, що обумовлений зменшенням обсягів накопичення активного мулу на мулових майданчиках, безвідходною утилізацією відходів очисних споруд, застосуванням біомаси гідробіонтів-евтрофікантів як субстрату у біотехнологічній галузі. Біомаса активного мулу є екологічно чистою, відноситься до відновлюваних джерел енергії та не потребує значних матеріальних затрат для її культивування. Вилучені із застосування методу Фолча ліпідні є цінною сировиною для вторинної комплексної переробки.

**ВИСНОВКИ.** 1. Обґрунтовано використання біомаси надлишкового активного мулу в якості біосубстрату в технології пластику у суміші з ціанобактеріями та експериментально доведено доцільність застосування запропонованої суміші як джерела ліпідної фракції.

2. Кількісне визначення загальної фракції ліпідів при вилученні з біомаси надлишкового активного мулу та із суміші активного мулу з ціанобактеріями доцільно проводити екстракцією за методом Фолча.

3. Математична обробка експериментальних даних з визначення вмісту ліпідів у біомасі активного мулу та його суміші з ціанобактеріями підтвердила практичну точність обчислення досліджуваних показників кількісного складу ліпідної фракції в біосубстраті з використанням методу Фолча.

4. Еколого-економічні переваги запропонованого технологічного рішення щодо використання надлишкового активного мулу як біосубстрату в технології біопластику полягають у реалізації комплексної екологічно безпечної безвідходної переробки мулу та можливості заміни традиційної сировини в технології синтетичного пластику на альтернативне джерело ліпідної фракції у виробництві біопластику.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дворецкий Д. С., Темнов М. С., Пешкова Е. В. Технология получения липидов из микроводорослей. Тамбов : ФГБОУ ВПО «ТГТУ», 2015. 97 с.

2. Пасенко А. В. Экологический аспект схем обращения с отходами водоочистки теплоэлектростанций. *Екологічна безпека*. 2012. Вип. 2/2012 (14). С. 29–32.

3. Юрченко В. А., Астапова А. В. Выявление факторов управления седиментационными свойствами активного ила. *Сборник научных трудов ХНАДУ*. 2010. № 48. С. 12–17.

4. Колесова О. В. Экстракция липидов из состава активного ила после микробиологической очистки сточных вод. *Вестник ПГТУ*. 2011. С. 165–171.

5. Шандрович В. Т., Мальований М. С., Полюжин І. П. Моніторинг ефективності роботи аеротенків на львівських очисних спорудах. *Вісник Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського*. 2015. Вип. 1/2015 (90). Част. 1. С. 126–132.

6. Ильин В. А., Позняк Э. Г. Основы математического анализа: в 2-х ч. Часть 1. 7-е издание. М. : ФИЗМАТЛИТ, 2005. 648 с.

7. Ульяновский В. А. Утилизация осадков сточных вод и бытовых отходов. *Водоснабжение и санитарная техника*. 2009. С. 23–42.

8. Жмур Н. С. Технологические и биологические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аеротенками. Минск : Акварос, 2007. 106 с.

9. Божков А. И. Биотехнология. Фундаментальные и промышленные аспекты. Харьков : Экологические факторы, 2008. 364 с.

10. Halim Ronald [et al.] Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review. *Biotechnology Advances*. 2012. Vol. 30. P. 710–731.

11. Siddiquee M. N., Rohani S. T. (2011) Lipid extraction and bioplastics production from municipal sewage sludges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2011. Vol. 15. pp. 1067–1072.

12. Huynh L. H., Kasini N. S. Extraction and analysis a neutral lipids from activated sludge with and without sub-critical water pretreatment. *Bioresource Technology*. 2010. Vol. 101. P. 91–96.

13. Estimation of a novel method to produce bio-oil from sewage sludge by microwave pyrolysis with the consideration of efficiency and safety. *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102. pp. 253–261.

14. Пасенко А. В. Пісьменнікова Т. С., Никифорова О. О., Дужонкова Д. Г. (2018) Активний мул як сировина в біотехнології. *Ідеї академіка В.І. Вернадського та проблеми сталого розвитку регіонів: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції* (м. Кременчук, 11–13 трав. 2018 р.). Кременчук, 2018. С. 96.

15. Пасенко А. В. Никифорова О. О., Карлик О. І., Пасенко Д. В. (2018) Перспективи утилізації активного мулу в технології отримання енергоносіїв. *Ідеї академіка В.І. Вернадського та проблеми сталого розвитку регіонів: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції* (м. Кременчук, 11–13 трав. 2018 р.). Кременчук, 2018. – С. 93.

**EXTRACTION OF LIPIDS FROM BIOMASS OF ACTIVE SLUDGE FOR BIOPLASTICS PRODUCTION**

**A. Pasenko, T. Pismennikova, O. Karlik, O. Novokhatko, O. Maznitska**

Kremenchuk Mykhailo Ostrohradskyi National University

vul. Pershotravneva, 20, Kremenchuk, 39600, Ukraine. E-mail: pismennikova275@gmail.com

**Purpose.** The purpose of this work is to substantiate the using of excessive active sludge as a substrate for receiving bioplastics biotechnology, as well as the experimental extraction of lipids from active sludge biomass to obtain the lipid fraction as a raw material for the plastics production. **Methodology.** The extraction of lipids from excessive active sludge biomass and quantitative estimation of the overall fraction of obtained lipids was carried out by the Folch method. The extraction was carried out by extraction mixture of chloroform/methanol (2:1) in a suspension: 10-20 parts on one part of the substrate. The method allows to extract from biomass 90- 95% of all cells lipids. **Findings.** The prospective product of complex processing of excessive active sludge is bioplastics, which is recommended to obtain from the lipid fraction that is extracted from the biomass of active sludge by extraction method. The basis of the lipid fraction of the sludge's prokaryotes are saturated or monounsaturated fatty acids with 16-18-carbon atoms. Polyunsaturated fatty acids in the cells of prokaryotic are absent. Prokaryotes' lipids are mainly located in the membranes, cell wall and in the form of spare inclusions. The lipid fraction, namely, phospholipids, derivatives of 3-phosphoglycerin, can account up to 50% of the dry mass of the membrane fraction of the endoplasmic reticulum that is bound to the cell membrane. To increase the yield of lipids from a sludge lipid substratum after water bio-waste processing it is proposed to use a mixture of active sludge with cyanobacteria, which are removed from the water of the eutrophilized reservoirs. Based on the results of the conducted experiments, lipid fractions were obtained in average 0,0041 g per 1 g of dry matter from active sludge and in average 0,0135 g, respectively, from the mixture of active sludge with cyanobacteria. Mathematical processing, namely, a complex statistical analysis of experimental data, was carried out using the Analysis of variance package, which confirmed the practical accuracy of the investigated parameters of the quantitative composition of lipids in the biosubstrate using the Folch method. **Originality.** It is founded the using of excessive active sludge biomass as a biosubstrate in a mixture with cyanobacteria in plastic technology and the feasibility of using the proposed mixture as a source of a lipid fraction has been experimentally proved. **Practical value.** The ecological and economic benefits of the proposed technological solution of using the excessive active sludge as a biomaterial in bioplastics technology consist in the implementation of a complex ecologically safe non-waste sludge processing and the possibility of replacing traditional raw materials of synthetic plastic technology on an alternative source of lipid fraction in the production of bioplastics. **Conclusions.** It is expedient to carry out the quantitative estimation of overall lipids fraction and their extraction from biomass of excessive active sludge and from the mixture of active sludge with cyanobacteria by Folch method. The obtained lipid fraction can be used in a technology of bioplastics.

**Key words:** bioplastics, lipids, biomass, active sludge, cyanobacteria, extraction, Folch method.

REFERENCE

1. Dvoretzky, D. S., Temnov, M. S., Peshkova, Ye. V. (2015), Technology for producing lipids from microalgae, Tambov: TSTU.
2. Pasenko, A. V. (2012), Ecological aspect of charts of handling wastes of water treatment in thermal power plant, *Ecological Safety*, Vol. 2/2012 (14), pp. 29–32.
3. Yurchenko, V. A., Astapova, A. V. (2010), Identification of factors controlling the sedimentation properties of active sludge, *Collection of scientific papers HNADU*, No. 48 pp. 12–17.
4. Kolesova, O. V. (2011), Extraction of lipids from the composition of activated sludge after microbiological treatment of wastewater, *Bulletin of PGTU*, pp. 165–171.
5. Shandrovich, V. T., Malovaniy, M. S., Polyuzhin, I. P. (2015), Monitoring efficiency of aerotechnics on Lviv spordes, *Transactions of Kremenchuk mykhailo ostrohradskyi National University*, Vol. 1/2015 (90), part 1. pp. 126–132.
6. Ilin, V. A., Pozniak, E. G. (2005), *Osnovy matematicheskii analiz*, B2-h. Part 1 Textbook for universities, 7th edition. 648 p.
7. Ulyanovsky, V. A. (2009), Utilization of sewage sludge and household waste, *Water supply and sanitary equipment*, pp. 23–42.
8. Zhmur, N. S. (2007), Technological and biological processes of wastewater treatment at buildings with aerotenki, Minsk: Aquaros, p. 106.
9. Bozhkov, A. I. (2008), *Biotechnology. Fundamental and industrial aspects*, Kharkov: Ecological factors.
10. Halim, Ronald [et al.] (2012), Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review, *Biotechnology Advances*, Vol. 30. pp. 710–731.
11. Siddiquee, M. N., Rohani, S. T. (2011), Lipid extraction and bioplastics production from municipal sewage sludges, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 15. pp. 1067–1072.
12. Huynh, L. H., Kasini, N. S. (2010), Extraction and analysis a neutral lipids from activated sludge with and without sub-critical water pretreatment, *Bioresource Technology*, Vol. 101. pp. 91–96.
13. Estimation of a novel method to produce bio-oil from sewage sludge by microwave pyrolysis with the consideration of efficiency and safety, *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102. pp. 253–261.
14. Pasenko, A. V., Pismennikova, T. S., Nykyforova, O. O., Duzhonkova, D. G. (2018), Active sludge as a raw material in biotechnology, *Ideas of Academician V.I. Vernadsky and problems of sustainable development of the regions: materials XVII International scientific and practical conference (Kremenchuk, 11–13 May 2018 p.)*, p. 96.
15. Pasenko, A. V., Nykyforova, O. O., Karlik, O. I., Pasenko, D. V. (2018), Prospects for utilization of active sludge in energy technology, *Ideas of Academician V.I. Vernadsky and problems of sustainable development of the regions: materials XVII International scientific and practical conference (Kremenchuk, 11–13 May 2018 p.)*, p. 93.

Стаття надійшла 01.10.2018.