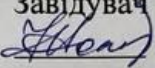


НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
ІМЕНІ ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

«На правах рукопису»
УДК 628.331

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
 Голуб Н.Б.

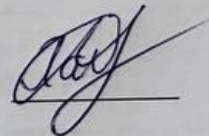
«27» травня 2024р.

Магістерська дисертація

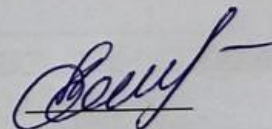
на здобуття ступеня магістра

за освітньо-науковою програмою «Біотехнології»
зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
на тему: «Ефективність очищення стічних вод від антибіотиків з
використанням вищих водних рослин»

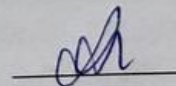
Виконала:
студентка 2 курсу, групи ББ-21мн
Павліченко Марія Олександрівна



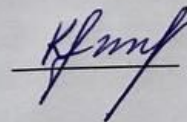
Науковий керівник:
професор кафедри біоенергетики,
біоінформатики та екобіотехнології, д.т.н.
Саблій Лариса Андріївна

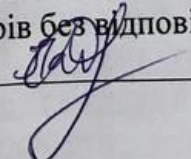


Консультант з розділу: економічна частина
Доц. каф. Економіки і підприємництва, к.е.н., доц.
Погребняк Анна Юріївна



Рецензент:
Доц. каф. ТНР, В та ЗХТ, к.т.н.
Косогіна Ірина Володимирівна



Засвідчую, що у цій магістерській
дисертації немає запозичень з праць
інших авторів без відповідних посилань.
Студентка 

Київ – 2024

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)
Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»
Освітньо-професійна програма «Біотехнології»



Директор ГОБ «ОСТВА»
Віктор ЛУЦИК
2023 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
Наталія ГОЛУБ
«23» 01 2023 р.

ЗАВДАННЯ
на магістерську дисертацію студенту



Павліченко Марії Олександрівні
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема дисертації Ефективність очищення стічних вод від антибіотиків з використанням вищих водних рослин, науковий керівник дисертації Саблій Лариса Андріївна, д.т.н., професор, затверджені наказом по університету від «08» 04 2024 р. № 1595-с
2. Термін подання студентом дисертації 07.06.2024
3. Об'єкт дослідження залежність ефективності видалення антибіотика ряскою при різних його концентраціях у водному розчині
4. Предмет дослідження модельний розчин, що містить ряску, сульфат калію та сульфаметоксазол з концентраціями його в розчині 0,25, 0,5 та 3 мг/дм³.
5. Перелік завдань, які потрібно розробити 1. Провести аналіз літератури з проблеми очищення стічних вод від антибіотиків та використання для очищення вищих водних рослин; 2. Розглянути та проаналізувати види вищих водних рослин для біологічного очищення стічних вод від антибіотика сульфаметоксазола; дослідити необхідні умови для життєдіяльності обраної рослини; 3. Обґрунтувати і вибрати метод біологічного очищення стічних вод від сульфаметоксазола з використанням в якості біологічного агенту ряскових; 4. Запропонувати методику проведення досліджень з очищення стічних вод від антибіотика з використанням модельних розчинів сульфаметоксазола; 5. Опрацювати методику аналізу сульфаметоксазола з використанням маспектрометрії та рідинної хроматографії; 6. Виконати експериментальне дослідження ефективності видалення із стічних вод сульфаметоксазола, з використанням *Lemna minor*, встановити найбільш ефективні технологічні параметри процесу очищення (температура, світловий режим, концентрація антибіотика, тривалість очищення); 7. Провести розрахунок ефективності очищення стічних вод від антибіотика ряскою та на основі отриманих даних побудувати графіки; 8. Розробити стартап-проект; 9. Навести основні вимоги охорони праці, пожежної та екологічної безпеки.

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу : рис. 16, табл. 22

7. Орієнтовний перелік публікацій: тези «Встановлення здатності вищих водних рослин до очищення стічних вод від антибіотиків», «Роль вищих водних рослин у зменшенні концентрації антибіотиків у природних водоймах»

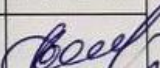
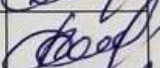
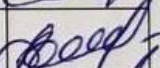
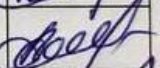
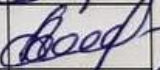
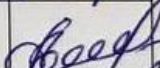
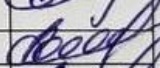

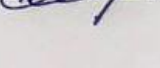
8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розробка стартап-проєкту	Погребняк А.Ю., доцент		

9. Дата видачі завдання

13.01.23

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Пошук літературних джерел з теми магістерської дисертації	05.03.23 - 25.03.23	
2	Вивчення умов потрапляння та складу антибіотиків в стічних водах	26.03.23 - 25.04.23	
3	Розгляд існуючих методів біологічного очищення стічних вод	26.04.23 - 15.05.23	
4	Вибір оптимального методу очищення стічних вод	16.05.23 - 30.06.23	
5	Дослідження умов необхідних для життєдіяльності <i>Lemma minor</i>	1.07.23 - 17.08.23	
6	Дослідження ефективності очищення стічних вод від сульфаметоксазолу ряскою <i>Lemma minor</i>	18.08.23 - 20.10.23	
7	Розроблення стартап-проєкту	10.01.24 - 19.03.24	
8	Викладення питань охорони праці	25.03.24 - 25.04.24	
9	Оформлювання пояснювальної записки	26.04.24 - 27.05.24	

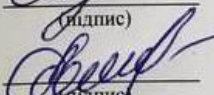
Студент


(підпис)

М.О. Павліченко

(ініціали, прізвище)

Науковий керівник дисертації


(підпис)

Л.А. Саблій

(ініціали, прізвище)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: с. 76, рис. 16, табл. 22, посилань 43.

Досліджено та обґрунтовано ефективність біотехнологічних процесів очищення стічних вод від антибіотика сульфаметоксазолу з використанням вищих водних рослин *Lemna minor*. Робота виконана за замовленням проєктної організації ТОВ «ОСТВА».

Проаналізовано сучасні джерела для вивчення умов, хімічного складу та властивостей стічних вод, що містять підвищені концентрації антибіотиків. Розглянуто існуючі біологічні методи очищення стічних вод від сульфаметоксазолу. Запропоновано перспективний метод очищення стічних вод в біоставках за допомогою вищих водних рослин. У магістерській роботі проведено експериментальне визначення ефективності видалення біогенних сполук сульфаметоксазолу ряскою *Lemna minor* з модельних розчинів з концентраціями 0.25, 0.5 та 3 мг/дм³, де біомаса ряски становила 5 грамів. Загальна тривалість експерименту складала 80 годин. У ході експерименту було використано мас-спектрометричний та рідинно-хроматографічний методи аналізу для визначення концентрації антибіотику в пробах. Встановлено здатність ряски до ефективного видалення антибіотику зі стічної води (до 26%). На основі отриманих результатів розроблено стартап-проєкт і визначено основні вимоги щодо охорони праці та безпеки при надзвичайних ситуаціях під час виконання досліджень в лабораторії.

СТІЧНІ ВОДИ, АНТИБІОТИКИ, БІОЛОГІЧНЕ ОЧИЩЕННЯ, ВИЩІ ВОДНІ РОСЛИНИ, LEMNA MINOR, СУЛЬФАМЕТОКСАЗОЛ

ABSTRACT

Explanatory note: p. 76, fig. 16, table 22, references 43.

The effectiveness of biotechnological processes of wastewater treatment from the antibiotic sulfamethoxazole using higher aquatic plants *Lemna minor* has been investigated and substantiated. The work was performed by order of the project organization "OSTVA" LLC.

Modern sources were analyzed to study the conditions, chemical composition, and properties of wastewater containing elevated concentrations of antibiotics. The existing biological methods of wastewater treatment from sulfamethoxazole are considered. A promising method of wastewater treatment in bioponds using higher aquatic plants is proposed. In the master's thesis, an experimental determination of the efficiency of removal of biogenic compounds of sulfamethoxazole by watercress *Lemna minor* from model solutions with concentrations of 0.25, 0.5 and 3 mg/dm³, where the watercress biomass was 5 grams, was carried out. The total duration of the experiment was 80 hours. In the course of the experiment, mass spectrometric and liquid chromatographic methods of analysis were used to determine the concentration of the antibiotic in the samples. The ability of watercress to effectively remove antibiotics from wastewater (up to 26%) has been established. Based on the obtained results, a start-up project was developed and the basic requirements for occupational health and safety in emergency situations during research in the laboratory were determined.

WASTEWATER, ANTIBIOTICS, BIOLOGICAL TREATMENT, HIGHER
AQUATIC PLANTS, LEMNA MINOR, SULFAMETHOXAZOLE

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
Розділ 1 Проблема антибіотиків в стічних водах та пошук ефективних методів їх видалення	12
1.1 Характеристика сульфаніламідів.....	13
1.2 Джерела надходження сульфаніламідів у стічні води	14
1.3 Синтез сульфатних антибіотиків	15
1.4 Методи очищення стічних вод від антибіотиків.....	17
1.5 Використання вищих водних рослин для очищення стічних вод від антибіотиків	19
1.6 Механізм очищення стічних вод від сульфаметоксазолу ряскою	23
Висновки до розділу 1	24
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження	26
2.1 Методика відбору біологічного матеріалу, необхідного для проведення дослідження	26
2.2 Методика приготування модельних розчинів з вмістом солей та сульфаметоксазолу	27
2.3 Хімічні речовини та аналітична система	30
2.4 Опис експериментальних установок.....	30
2.5 Методика проведення експерименту	31
2.6 Методика вимірювання концентрації сульфаметоксазолу в дослідних розчинах	33
2.7 Методика визначення параметрів ефективності процесу очищення.....	34
Висновки до розділу 2	36
Розділ 3 Результати дослідження з очищення модельних розчинів від сульфаметоксазолу	37
3.1 Визначення розрахункових параметрів процесу	38
3.2 Вплив тривалості контакту модельного розчину антибіотика з ряскою на ефективність його видалення з розчину	40
Висновки до розділу 3	44
4 Розробка стартап-проекту	46
4.1 Аналіз внутрішнього середовища підприємства	48
4.2 Аналіз зовнішнього середовища підприємства	49

4.3 Ключові фактори успіху стартап-проєкту	50
4.4 Визначення потенційних споживачів.....	53
4.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку.....	54
4.6. Концепція бізнес-моделі проєкту та карта бізнес-процесів реалізації проєкту.....	60
4.7 Ризики і страхування розробки.....	64
Висновки до розділу 4	65
5. Охорона праці і техніка безпеки в надзвичайних ситуаціях	66
5.1. Охорона праці в лабораторії	66
5.2 Правила техніки безпеки при роботі з кислотами і лугами.....	67
5.3 Техніка безпеки при роботі з легкозаймистою рідиною	67
5.4 Заходи безпеки при витoku газу та гасінні локальної пожежі та палаючого одягу.....	68
5.5 Надання першої медичної допомоги при опіках і отруєннях хімічними речовинами.....	68
ВИСНОВКИ.....	70
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	72

ВСТУП

Антибіотики протягом кількох десятиліть використовували для лікування мікробних інфекцій, а також як кормові добавки для стимулювання росту худоби. Антибіотики світового виробництва зрештою потрапляють у навколишнє середовище у вигляді залишків зі стічними водами. Стічні води, які містять антибіотики, стали серйозною проблемою для довкілля та громадського здоров'я усього світу. Високі концентрації антибіотиків, згідно літературних джерел, виявлені в стоках лікарень – 124,5 нг/мл для ципрофлоксацину, у стоках очисних споруд (64 нг/мл для цефалексину, 80 нг/мл для β -лактамів та культуральних стічних водах (540 нг/мл) для тетрациклінів, 275 нг/мл для макролідів [1].

На жаль, повне видалення антибіотиків механічними, хімічними та фізико-хімічними технологіями на очисних спорудах стічних вод, таких як β -лактами (17–43%), макроліди (40–46%), сульфаніламідів (20–24%), тетрациклінів (66–90%) неможливе, адже вони можуть проявляти стійкість хімічних сполук та утворювати з хімічними реагентами похідні. Методи біологічної обробки, мембранної фільтрації, адсорбції активованим вугіллям, процесів окиснення були широко досліджені. Лише частина антибіотиків може бути розкладена під час біологічної обробки з використанням біофільтрів та подальшої УФ-дезінфекції води та стічних вод. Методи хімічного окиснення, мембранної фільтрації мають високу ефективність видалення (90–99% та 98,5%) антибіотиків, але обмежені високою вартістю та умовами такими, як: забезпечення високого тиску для проведення фільтрації та регулярна очистка мембран, підтримка необхідного рівню рН (при озонуванні допустиме значення рН 6-8), також вибір окисників (наприклад, пероксид водню, озон) залежить від хімічної структури антибіотиків [1, 2].

ФітореMediaція вважається одним із найбільш перспективних методів очищення стічних вод, що дозволяє природним шляхом забезпечити видалення або значне зниження рівня забруднення води. Це допомагає зменшити техногенний вплив на водні ресурси. Заходи фітореMediaції ґрунтуються на властивості рослин поглинати забруднюючі речовини з води або ґрунту. Зазвичай для очищення води у системах фітореMediaції

використовують вищі водні рослини, такі, як: очерет, ряска, різні види рогози, аїр та комиш. Поряд з вищими водними рослинами в фітореMediaції використовують деревну рослинність. Дерева та ліси грають значну роль в ліквідації забруднення в ґрунтах та водах.

Різноманіття типів очисних споруд визначається конструктивними особливостями та відмінностями в технології їх створення та експлуатації. Серед таких споруд можна виділити ботанічні майданчики, штучні заболочені ділянки, біоплато, ставки-фільтри, біологічні ставки з посадками вищих водних рослин, фільтраційні пристрої та біоінженерні споруди. Спільною особливістю всіх цих споруд є наявність біоценозу вищих водних рослин, який впливає на процеси очищення води та інженерні характеристики споруд. ФітореMediaція є відносно новою технологією, що отримала широке використання завдяки своїм низьким витратам та експлуатацію в багатьох країнах світу.

За останні десятиліття антибіотики стали неодмінною складовою медичного лікування, але водночас це призвело до збільшення викидів антибіотиків у навколишнє середовище через стічні води. У літературних джерелах зазначено, що виявлена концентрація сульфаметоксазолу у міських стічних водах досягає 54,83 мг/дм³. Є різні типи антибіотиків, що зберігаються у поверхневих або прісних водах у всьому світі, такі як: хінолони, сульфонаміди, тетрацикліни, макроліди, пеніциліни. Серед цих антибіотиків у водному середовищі найчастіше присутні хінолони, сульфаніламід, тетрацикліни та макроліди, що може призвести до виникнення резистентності у мікроорганізмів та негативно вплинути на екосистеми.

Тому проблема очищення стічних вод від антибіотиків останнім часом набуває важливого значення.

Метою роботи є визначення ефективності очищення стічних вод від антибіотика сульфаметоксазолу за використання *Lemna minor* для можливості застосування вищих водних рослин в технології водоочищення.

Об'єкт дослідження. У якості об'єкту дослідження було розглянуто залежність ефективності видалення антибіотика ряскою при різних його концентраціях у водному розчині та тривалості процесу.

Предмет дослідження. У якості предмету дослідження було обрано модельний розчин, що містить ряску, сульфат калію та сульфаметоксазол з діапазоном концентрацій останнього в розчині 0.25, 0.5 та 3 мг/дм³.

Методи дослідження. У ході експерименту було використано мас-спектрометричний та рідинно-хроматографічний методи аналізу для визначення концентрації антибіотику в пробах.

Наукова новизна. Вперше було встановлено вплив різних концентрацій (0.25, 0.5 та 3 мг/дм³). сульфаметоксазолу на ефективність очищення ряскою *Letna* стічних вод за тривалості процесу від 0 до 80 год.

Практичне значення отриманих результатів. Ряску *Letna minor* можна використовувати для ефективного очищення стічних вод, з діапазоном початкових концентрацій сульфаметоксазолу 0,25-3 мг/дм³ за тривалості 80 год і кількості біомаси ряски 5 грамів.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

1. Провести аналіз літератури з проблеми очищення стічних вод від антибіотиків та використання для очищення вищих водних рослин;
2. Розглянути та проаналізувати види вищих водних рослин для біологічного очищення стічних вод від антибіотику сульфаметоксазолу; дослідити необхідні умови для життєдіяльності обраної рослини;
3. Обґрунтувати і вибрати метод біологічного очищення стічних вод від антибіотика сульфаметоксазола з використанням в якості біологічного агенту ряскових;
4. Запропонувати методику проведення досліджень з очищення стічних вод від антибіотика з використанням модельних розчинів сульфаметоксазола;
5. Опрацювати методику аналізу сульфаметоксазола з використанням масспектрометрії та рідинної хроматографії;
6. Виконати експериментальне дослідження ефективності видалення з стічних вод антибіотика – сульфаметоксазола, з використанням вищих водних рослин – *Letna minor*, встановити найбільш ефективні

технологічні параметри процесу очищення (температура, світловий режим, товщина шару води, концентрація антибіотика, тривалість очищення);

7. Провести розрахунок ефективності очищення стічних вод від антибіотику вищими водними рослинами та на основі отриманих даних побудувати графіки;
8. Розробити стартап-проект;
9. Навести основні вимоги охорони праці, пожежної та екологічної безпеки, які вимагаються при роботі в лабораторії.

Апробація результатів експериментальних досліджень. За результатами досліджень опубліковано тези на таких конференціях:

1. Павліченко М.О. Встановлення здатності вищих водних рослин до очищення стічних вод від антибіотиків / М.О. Павліченко, Л.А. Саблій // Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти (9-10 листопада 2023 р., КПІ ім. Ігоря Сікорського, м. Київ): матер. VIII Міжнар. наук.-практ. конф./ Уклад. Жукова В. – 2023. – С. 127-129.

2. Павліченко М.О. Роль вищих водних рослин у зменшенні концентрації антибіотиків у природних водоймах / М.О. Павліченко, Л.А. Саблій // Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування (26-27 квітня 2024 р., Державний біотехнологічний університет, м. Харків): матер. Міжнар. наук. конф, 2024. – С. 170-171.

Розділ 1 Проблема антибіотиків в стічних водах та пошук ефективних методів їх видалення

Антибіотики широко використовують для лікування захворювань людей і тварин і, особливо, у тваринництві. Сульфонаміди часто використовують в аквакультурі для профілактики та лікування захворювань. Проте різноманітні антибіотики, виявлені у водному середовищі, виявляють різний ступінь токсичності для водних організмів [1].

Антибіотики не повністю видаляються зі стічних вод за допомогою традиційних методів очищення, що призводить до їх потрапляння у водойми та викликає різні рівні забруднення водного середовища. Антибіотики, що залишаються у водному середовищі протягом тривалого часу, можуть викликати генотоксичність і гістопатологічні зміни в різних водних організмах.

Для експериментальної частини диплому обрано антибіотик, який є поширеним у водних системах та виявляє високий рівень стійкості до традиційних методів очищення. У дослідженнях ефективності очищення стічних вод від антибіотиків за допомогою вищих водних рослин найчастіше використовують азитроміцин (Azithromycin) та сульфаметоксазол (Sulfamethoxazole) [2]. Ці два антибіотики є широко вживаними та поширеними у медицині, тому їх присутність у стічних водах є актуальною проблемою для довкілля та водних екосистем.

Вибір сульфаметоксазолу обумовлений його відносною стабільністю у водних середовищах та можливістю легкої детекції аналітичними методами. Концентрація сульфаметоксазолу в міських стічних водах може варіюватися залежно від різних факторів, таких як місцева медична практика, наявність лікарняних установ, технології очищення стічних вод, ступінь забруднення водоймища тощо. Зазвичай, у міських стічних водах концентрація сульфаметоксазолу може бути в діапазоні від нанограм до мікрограм на дм^3 (нг/дм^3 до мкг/дм^3).

Дослідження, проведені в різних регіонах, показали, що середня концентрація сульфаметоксазолу у міських стічних водах може становити від декількох десятків до кількох сотень нг/дм^3 або навіть до кількох мкг/дм^3 в

окремих випадках. Проте, концентрації антибіотиків в стічних водах можуть значно варіюватися в залежності від певних обставин та регіональних особливостей. Наявність антибіотиків, таких як сульфаметоксазол, у стічних водах створює проблеми для довкілля, а також може сприяти розвитку антибіотикорезистентності в природних водних екосистемах [3].

З метою збереження довкілля та забезпечення якості водних ресурсів, дослідження ефективності очищення стічних вод від сульфаметоксазолу є актуальним та важливим завданням для наукової спільноти та практичних застосувань.

1.1 Характеристика сульфаніламідів

Сульфонамід був вперше відзначений як антибактеріальний засіб у 1900-х роках німецьким мікробіологом Герхардом Домагком – лауреатом Нобелівської премії в 1939 році. У своїй спробі врятувати свою доньку від інфекції, що вбиває стрептококи, він помітив, що пронтозил, сульфаніламідний барвник, здатний вибірково стримувати клітини інфекційних бактерій. У 1936 році Ернест Фурно виявив пронтозильний шлях в організмі людини. Він виявив, що цей барвник був проліком. Він фактично перетворюється в організмі людини на сульфаніламід, який є антибактеріальним активним агентом.

Цей винахід став поштовхом до відкриття інших антибактеріальних засобів, отриманих із цієї хімічної групи, таких як сульфапіридин у 1938 році проти пневмонії, сульфацетамід у 1941 році проти інфекцій сечовивідних шляхів і сукциноілсульфатіазол у 1942 році проти інфекцій шлунково-кишкового тракту. Сульфатіазол широко використовувався під час Другої світової війни для лікування інфекцій солдатських ран. Пізніше було виявлено сульфізоксаїд, сульфаметоксазол, сульфацетамід, мафенід і сульфадіазин срібла, і ці чотири агенти є сульфонамідними антибактеріальними агентами, які досі використовуються в клінічній практиці [2, 3].

Сульфонаміди (SA) є похідними аміачно-бензолсульфонової групи, і їх молекулярні структури складаються з бензольного кільця, пара-аміногрупи та сульфонфталамідної групи (рис. 1). Типова структура третинної SN включає центральний атом сірки з двома подвійними зв'язками кисню.

Альтернативним способом опису прототипової структури препарату SN є органічна сполука, що складається з аніліну, дериватизованого сульфонамідною групою. СА мають різні властивості та функції через різні -R-групи, і їх полярність змінюватиметься при різному рН. За винятком сульфагуанідину і сульфасалазину, низькомолекулярні СА є водорозчинними та мають низьку константу Генрі [2,4].

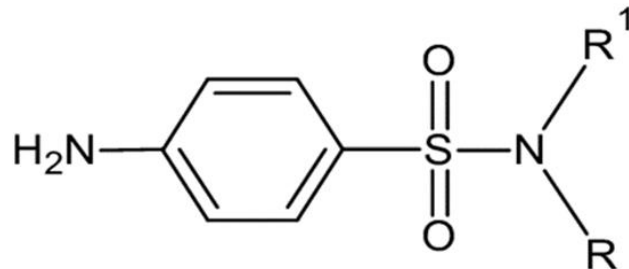


Рис. 1 Загальна будова сульфаніламідних антибіотиків

Сульфаніламідні антибіотики в основному включають сульфагуанідин, сульфапіридин, сульфадіазин, сульфаметоксазол, сульфатіазол, сульфамеразин, сульфізоксазол, сульфаметазин, сульфаметоксипіридазин, сульфахлорпіридазин і сульфадиметоксин, які найчастіше використовуються у ветеринарії.

Сульфонаміди є важливим класом антибіотиків із широким спектром дії, дуже ефективними проти грампозитивних і деяких грамнегативних бактерій. Деякі з чутливих грамнегативних бактерій включають *Klebsiella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* та *Enterobacter*. Однак сульфаніламідні не виявляють інгібіторної активності (бактеріальної резистентності) проти видів *Pseudomonas aeruginosa* та *Serratia*. Сульфаніламідні застосовують при лікуванні тонзиліту, септицемії, менінгококового менінгіту та інфекцій сечовивідних шляхів. Сульфонаміди також виявляють інгібіторну активність щодо деяких грибів (*Pneumocystis carinii*) і найпростіших (*Toxoplasma*, *Coccidia*) [5].

1.2 Джерела надходження сульфаніламідів у стічні води

Скидання стічних вод тваринництва та аквакультури є одним із кількох основних антропогенних факторів, що призводять до забруднення водного середовища антибіотиками, таким чином, максимальна виявлена концентрація

сульфаметоксазолу досягає 54,83 мг/дм³. В літературних джерелах узагальнено різні типи антибіотиків, що зберігаються у вигляді залишків у поверхневих або підземних водах у всьому світі, такі як: хінолони, сульфонаміди, тетрацикліни, макроліди, пеніциліни, цефалоспорини, нітроїмідазоли. Серед цих антибіотиків у водному середовищі найчастіше присутні хінолони, сульфаніламідів, тетрацикліни та макроліди [1, 2]. Основними джерелами доксицикліну, тетрацикліну, окситетрацикліну та сульфаметоксазолу є аквакультура та люди, тоді як основним джерелом сульфадіазину та сульфаметилпіримідину є тваринництво.

Після перетравлення людиною та тваринами приблизно 30–90% сульфаніламідів потрапляють у навколишнє середовище у формі метаболітів. Метаболіти сульфаніламідів не втрачають біологічної активності у водному середовищі і можуть утворювати інші сполуки за певних умов. За оцінками, щорічно в біосферу потрапляє понад 20 000 тон сульфаніламідних антибіотиків (за винятком гербіцидів) з антибактеріальними властивостями. Сульфаніламідів можуть потрапляти у водне середовище багатьма шляхами. Кілька національних і міжнародних досліджень повідомляють про наявність залишків сульфаніламідів у різних водних середовищах (включаючи поверхневі води, підземні води, питну воду і морську) [6].

1.3 Синтез сульфатних антибіотиків

Існує низка опублікованих методів синтезу сульфаніламідів у різних дослідницьких роботах, але найбільш поширений метод включає реакцію аліфатичного або ароматичного сульфонілхлориду з аміаком, це дає більший вихід продукту порівняно з іншими методами. Початковою сполукою для синтезу сульфонамідів є бензол, який приймає участь ще в шістьох етапах для отримання антибіотику. Бензол піддається нітруванню з утворенням нітробензолу, який потім відновлюється відновником станомом і соляною кислотою з утворенням іона аніліну та далі перетворюється на анілін за допомогою гідроксиду натрію. Ацетанілід, отриманий шляхом ацетилювання у водному середовищі, потім реагує з хлорсульфоною кислотою, утворюючи 4-ацетамідобензенсульфонілхлорид. Утворений таким чином

проміжний продукт дає 4-ацетамідобензолсульфонамід у присутності аміаку. Останнім етапом синтезу є гідроліз у кислому середовищі з утворенням 4-амінобензолсульфонаміду (сульфаніламіду) [32]. Схематичне зображення синтезу сульфаніламідного препарату показано на Рис. 2.

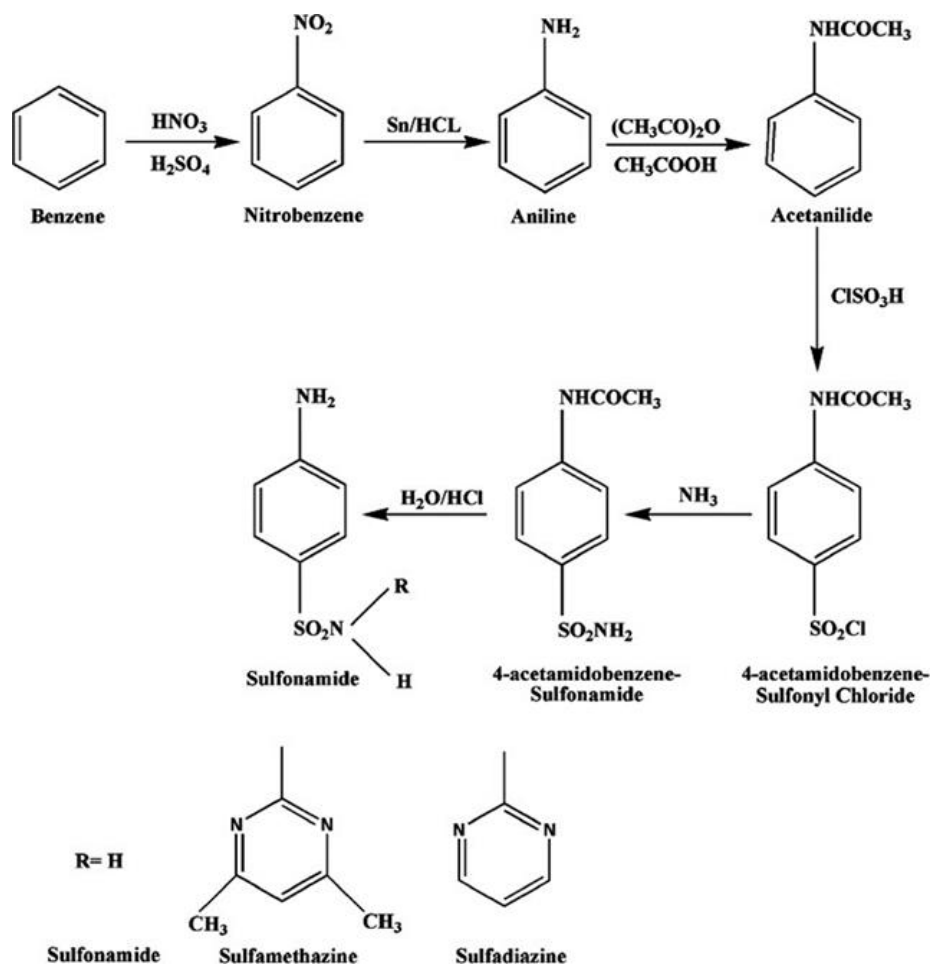


Рисунок 2. Схематичне зображення синтезу сульфаніламідного препарату [2]

Завершальний етап включає аналіз та характеризацію отриманих антибіотичних сполук з використанням різних аналітичних методів, таких як ядерний магнітний резонанс (ЯМР), маспектрометрія та інші. Синтез сульфатних антибіотиків вимагає точного контролю над усіма етапами реакцій та реагентами, а також вивчення різноманітних методів забезпечення виходу бажаних продуктів та мінімізації супутніх побічних реакцій. У результаті високоякісного синтезу може бути отримано антибіотичні сполуки зі сульфатними групами [22].

1.4 Методи очищення стічних вод від антибіотиків

Лікарні скидають велику кількість антибіотиків у водне середовище і є основним джерелом забруднення. Надходження антибіотиків від тваринництва у водне середовище також несе негативний вплив. Використання антибіотиків не обмежується людьми та тваринами; їх широко використовують в аквакультурі. Аквакультура є ключовою галуззю для задоволення людського попиту на водні продукти [26]. Таким чином, використання антибіотиків в аквакультурі зростає. Одночасно метод скринінгу маспектрометрії високої роздільної здатності широко застосовують для моніторингу залишкових антибіотиків у водних продуктах [10, 23].

Очищення стічних вод від антибіотиків є важливою задачею для забезпечення якості водних ресурсів та запобігання негативному впливу антибіотиків на навколишнє середовище та здоров'я людей. Для досягнення цієї мети використовують різні методи очищення, які можна поділити на фізичні, хімічні, біологічні та комбіновані [11].

Фізичні методи очищення:

- Фільтрація. Використання різних типів фільтрів, таких як піщані, вугільні або мембранні, з метою ефективного видалення антибіотиків.
- Ультрафільтрація. Використання мембран з маленькими порами для відокремлення антибіотиків від розчину на основі розміру частинок.

Хімічні методи очищення:

- Окислювальна обробка. Використання хімічних окисників, таких як пероксид водню, для розкладання антибіотиків на менш шкідливі сполуки.
- Процеси фотоокиснення. Використання світла (наприклад, ультрафіолетового опромінення) разом із фотокаталізаторами для збільшення швидкості хімічних реакцій окиснення антибіотиків.

Фізико-хімічні методи:

- Коагуляція-флокуляція. Застосування коагулянтів, таких як солі алюмінію або заліза, для згущення забруднень у воді у вигляді флокул. Флокулянти потім взаємодіють з антибіотиками, утворюючи більш

великі частинки, які можуть бути видалені шляхом осадження або фільтрації.

- Адсорбція на активованому вугіллі. Використання активованого вугілля як адсорбенту для поглинання антибіотиків зі стічних вод. Вугілля виводиться зі стічних вод разом з антибіотиками, що забезпечує їх видалення.
- Дистиляція. Переведення стічних вод у парову фазу та подальше конденсування пари для отримання очищеної води. Цей метод може бути ефективним для видалення антибіотиків, які мають високу температуру кипіння.

Біологічні методи очищення:

- Аеробні біологічні процеси. Використання бактерій та інших мікроорганізмів у біореакторах для розкладання антибіотиків на більш безпечні сполуки.
- Анаеробні біологічні процеси: Застосування бактерій, які працюють у відсутності кисню, для зниження концентрації антибіотиків.

Комбіновані методи очищення:

- Мембранна технологія з активованим вугіллем. Комбінація мембранної фільтрації з використанням активованого вугілля для поглинання антибіотиків.
- Електрофільтрація та озонування. Спершу застосовується електрофільтрація, де електричний заряд допомагає видалити антибіотики зі стічних вод. Потім вода піддається процесу озонування, де озон розкладає антибіотики на менш токсичні сполуки.

Кожен метод має свої переваги та обмеження, і вибір певного методу залежить від конкретних умов, ресурсів та вимог до очищення стічних вод від антибіотиків. Комбінація різних методів може також забезпечити більш ефективне очищення [26].

Поглинання сульфатних антибіотиків рослинами з води може відбуватися за допомогою різних механізмів, включаючи:

Фізико-хімічне поглинання. Рослини можуть поглинати сульфатні антибіотики з води через фізико-хімічні процеси, такі як адсорбція, іонний

обмін та хемосорбція. Ці процеси дозволяють видалити антибіотики з розчину та зберігати їх у структурі рослини.

Ризосферне поглинання. Ризосфера - це зона навколо коренів рослин, де відбувається активна взаємодія рослин із ґрунтом. Рослини можуть виділяти ризосферні субстанції, які збільшують поглинання антибіотиків з ґрунту та води.

Фітосанація. Деякі вищі водні рослини мають здатність до фітосанації - процесу, в якому рослини поглинають забруднюючі речовини, включаючи антибіотики, з навколишнього середовища та очищають його.

Біотрансформація. Рослини можуть використовувати механізми біотрансформації антибіотиків та зменшення їх токсичності.

Утворення комплексів. Деякі сульфатні антибіотики можуть утворювати комплекси з іонами металів, які можуть сприяти їх поглинанню рослинами.

Рівень поглинання сульфатних антибіотиків рослинами залежить від властивостей антибіотика, типу рослини, умов довкілля та концентрації антибіотика у воді. Використання вищих водних рослин у процесі очищення стічних вод від антибіотиків може бути ефективним методом зменшення їх концентрації у воді та допомагати збереженню довкілля [12, 17].

Існує кілька аналітичних методів для точного вимірювання ефективності видалення антибіотиків на очисних спорудах. Однак, згідно зі Звітом ООН про світовий розвиток водних ресурсів за 2017 рік, показники очищення стічних вод відрізняються від країни до країни. У країнах з низьким рівнем доходу неочищені стічні води складають понад 90%, що серйозно впливає на екологічний стан природних водойм [6].

1.5 Використання вищих водних рослин для очищення стічних вод від антибіотиків

Вищі водні рослини використовуються як ефективний біологічний агент для очищення стічних вод від антибіотиків та інших забруднюючих речовин. Цей метод, відомий як фітоочищення або фітосанація, заснований на здатності рослин поглинати та метаболізувати різні забруднюючі речовини з води. Основна ідея полягає в тому, що вищі водні рослини, такі як ряска, гірчак, рогіз

та папороті, відіграють роль біологічного фільтра, поглинаючи забруднення та забезпечуючи очищення води перед її скиданням у водойму [6, 7].

Процес фітоочищення включає такі етапи:

1. Збір стічних вод. Стічні води збираються з джерел забруднення і направляються до системи очищення.
2. Фільтрація через кореневу зону. Вищі водні рослини вирощують у спеціальних настилах або контейнерах, де здійснюється контрольоване середовище, такі рослини мають особливу здатність затримувати і поглинати різні речовини, у тому числі антибіотики, з води шляхом проходження через їх кореневу зону.
3. Адсорбція та метаболізація. Корені вищих водних рослин мають здатність поглинати антибіотики та інші забруднюючі речовини, які потім можуть бути метаболізовані та перетворені на менш токсичні сполуки.
4. Вирощування рослин. Рослини ростуть у воді та використовують забруднення як джерело харчування та поживних речовин.
5. Видалення біомаси. Після того, як рослини виконали свої функції очищення, їх біомасу можуть видаляти із системи, щоб уникнути накопичення забруднень.

Переваги використання вищих водних рослин у процесі очищення стічних вод від антибіотиків включають ефективно та екологічно безпечно зменшення концентрації антибіотиків у воді, збереження довкілля та допомогу в подальшому використанні очищеної води для інших цілей, таких як зрошування або іригація сільськогосподарських угідь [18, 19].

Для ефективного очищення стічних вод від антибіотиків можуть використовуватися різні види вищих водних рослин. Нижче наведено опис та порівняння декількох потенційно ефективних видів:

Лемна. Один із важливих видів рослин для біологічного очищення стічних вод. Вона має швидкий ріст і здатність активно поглинати речовини з води через кореневу зону. Лемна має маленькі листки, які утворюють покрив на поверхні води. Важливою перевагою є те, що дана рослина може рости у стічній воді, тобто невибаглива до органічного і мінерального складу забруднень води [20].

Сальвінія. Рослина з плаваючими листками, що утворюють розлогі розетки на поверхні води. Ця рослина також може використовуватися для ефективного очищення стічних вод від антибіотиків. Сальвінія здатна затримувати речовини на поверхні листків, що допомагає їх подальшому видаленню з води.

Тифа. Вища водна рослина з кореневою системою, що занурюється у воду. Вона має велику кількість листків, які можуть затримувати частинки та розчинені речовини, включаючи антибіотики.

Таблиця 1. Порівняння основних параметрів вищих водних рослин для ефективного очищення стічних вод від антибіотиків

Параметри	Лемна	Сальвінія	Тифа
Швидкість росту	висока	середня	низька
Розмір листків	маленькі	великі	великі
Поглинання речовин	коренева зона	поверхня листків	коренева зона
Плаваючий шар	не формує	формує	не формує
Видалення з води	механічно	механічно	необхідна обробка
Адаптованість до умов	висока	низька	висока
Ефективність очищення	висока	середня	середня
Розповсюдженість	поширена	обмежена	поширена
Вартість утримання	низька	середня	середня

При виборі рослин для очищення стічних вод від антибіотиків враховуються їх біологічні властивості, розповсюдженість у природі та ефективність у поглинанні речовин з води. Проаналізувавши дані з Таблиці 1, можна зробити висновки, що Лемна має більше переваг. Швидкий ріст і маленькі листки сприяють активному поглинанню антибіотиків [24]. Зручне видалення з води та низька вартість утримання роблять використання цієї рослини економічно вигідним. Крім того, ця рослина є *in situ* біомонітором забруднення води через її велику кількість у прісноводних екосистемах та обмежену мобільність. Таким чином, ряска є корисною модельною системою для оцінки взаємодії між водними рослинами, природними мікроорганізмами та органічними забруднювачами [29].

Незважаючи на широке використання *Lemna minor*, поки що існує небагато дослідницьких робіт, які досліджують усунення органічних мікрозабруднювачів. У літературних джерелах описано видалення семи мікрозабруднювачів у реакторі зі стандартним ростовим розчином з *Lemna minor*. Результати дослідження показали, що диклофенак, триклозан і кофеїн були повністю видалені, а потім ібупрофен і напроксен з видаленням вище 80% і 60% відповідно. Ряска активно збільшувала видалення деяких фармацевтичних препаратів, засобів особистої гігієни та пестицидів [21]. Можливе одночасне виробництво біомаси, видалення поживних речовин та усунення двох протимікробних препаратів (ципрофлоксацину та сульфаметоксазолу) в експериментах *Lemna minor* із побутовими стічними водами. Деякі органічні мікрозабруднювачі піддаються гідролізу, фотодеградації та відновній трансформації, тоді як сорбція та поглинання є важливими механізмами видалення токсичних сполук у рясці. Крім того, продукти перетворення цих сполук за відсутності та присутності *Lemna minor* не ідентифіковані [30].

Використання ряски роду *Lemna* у процесі очищення води від антибіотиків є одним із методів фітоочищення. Ряска *Lemna* має здатність поглинати різні речовини, включаючи антибіотики, з води, що дозволяє її використовувати в процесах біоремедіації для зниження концентрації антибіотиків у стічних водах. Основний механізм поглинання антибіотиків

ряскою полягає у фізичних і біохімічних процесах, де антибіотики поглинаються листочками ряски з води і накопичуються у її тканинах [8, 31]. Однак, використання ряски *Lemna* у фітоочищенні має свої обмеження. Інтенсивність поглинання антибіотиків залежить від умов довкілля, концентрації антибіотиків у воді та особливостей самої ряски. Крім того, для ефективності необхідно створити оптимальні умови для росту та розвитку ряски. Таким чином, використання ряски роду *Lemna* у процесах очищення води від антибіотиків є перспективним, але вимагає подальших досліджень та оптимізації умов для досягнення максимальної ефективності цього методу фітоочищення [9].

Поглинання антибіотиків ряскою може відбуватися за допомогою декількох механізмів:

Фізико-хімічне поглинання. Ряска може поглинати антибіотики з води через фізико-хімічні процеси, такі як адсорбція та хемосорбція. Ці процеси дозволяють утримувати антибіотики на поверхні ряски, що сприяє їх видаленню.

Біосорбція. Ряска має здатність активно затримувати антибіотики на своїй поверхні, зокрема за рахунок взаємодії антибіотиків зі слизовим шаром на поверхні рослини.

Фітосанація. Ряска може фітосанувати воду, поглинаючи антибіотики та інші забруднюючі речовини з навколишнього середовища та очищаючи його.

Метаболічна активність. Ряска може активно метаболізувати антибіотики, перетворюючи їх на менш токсичні сполуки.

Ці механізми дозволяють рясці забезпечувати ефективне очищення води від антибіотиків, зменшуючи їх концентрацію та токсичний вплив на навколишнє середовище. Використання ряски у процесі очищення стічних вод від антибіотиків є одним із екологічно безпечних методів біологічної очистки води [28].

1.6 Механізм очищення стічних вод від сульфаметоксазолу ряскою

Метаболізм антибіотика сульфаметоксазол у рясці *Lemna minor* проходить у такі етапи:

Фаза I: Абсорбція та секреція активних форм кисню (АФК):

У цій фазі ряска *Lemma minor* ініціює метаболічні процеси, починаючи з абсорбції антибіотиків з води. Під час цього процесу спостерігається виділення активних форм кисню (АФК), таких як перекис водню та супероксидні радикали. Ці АФК є ключовими активаторами фази I, готуючи антибіотики для подальшого оброблення [14].

Фаза II: Нейтралізація та кон'югація з ферментами:

Ефекти реактивних форм кисню (РФК) нейтралізуються у фазі II завдяки дії ферментів, зокрема глутатіонтрансферази, та кон'югації з метаболітами, такими як глутатіон. Цей етап спрямований на зменшення токсичності антибіотиків та підготовку їх до подальшого виведення.

Фаза III: Зберігання асимільованих сполук:

Остання фаза включає зберігання асимільованих антибіотиків у вакуолях, апопласті та клітинній стінці ряски. Це дозволяє утримувати оброблені антибіотики, мінімізуючи їх вплив на клітинні структури та гарантуючи ефективне виведення з водного середовища [27].

Виведення токсичних сполук:

Загальна дія рослин, зокрема ряски *Lemma minor*, спрямована на виведення токсичних сполук, таких як антибіотики, з водного середовища. Комплексний процес метаболізму усуває токсичні елементи та покращує якість води [15].

Висновки до розділу 1

Розглянуто проблеми антибіотиків у стічних водах та розробки ефективних методів їх видалення. Проведений аналіз різних аспектів даної проблеми, включаючи характеристику сульфаніламідів, джерела їх надходження у стічні води, синтез сульфатних антибіотиків, методи очищення від антибіотиків та використання вищих водних рослин, дозволяє зробити наступні висновки:

1. Структура та характеристика сульфаніламідів надають можливість визначення їх впливу на довкілля та необхідність розробки ефективних методів їх видалення.

2. Визначено, що основними джерелами надходження сульфаніламідів є промислова та сільськогосподарська діяльність, а також відходи лікувальних установ. Синтез сульфатних антибіотиків також є значущим чинником їхнього потрапляння у водойми.
3. Аналіз існуючих методів очищення від антибіотиків вказує на потребу удосконалення і розробки нових технологій. Перспективним можна вважати використання вищих водних рослин для подальшого дослідження та впровадження у практику.
4. Ефективність використання *Lemna minor* у очищенні стічних вод від антибіотиків відкриває нові можливості для створення екологічно чистих та стійких систем очищення. Вона виявляє властивість абсорбції та трансформації різноманітних сполук, сприяє викиду суспендованих частинок і інтенсифікує процеси очищення. Завдяки швидкому росту, ряска ефективно поглинає різні забруднюючі речовини, включаючи антибіотики, що призводить до ефективної очистки води.

Розділ 2 Матеріали та методи дослідження

Для аналізу впливу концентрації антибіотиків на ефективність очищення ряскою стічних вод були проведені дослідження, що включали визначення стабільності антибіотику у модельному розчині без рослин, визначення ефективності очищення ряскою *Lemna minor* з різними концентраціями антибіотика.

2.1 Методика відбору біологічного матеріалу, необхідного для проведення дослідження

Для відбору *Lemna minor* для проведення дослідження ефективності очищення стічних необхідно виконати наступні кроки:

1. Визначення регіону та середовища зростання рослини. Рослини повинні бути зібрані з чистого та незабрудненого джерела води, так як забруднення може вплинути на результати дослідження.
2. Збір рослин. *Lemna minor* може бути відібрана вручну, за допомогою маленьких сіток або решіток. Рослини відбираються уникаючи забруднень та пошкоджень.
3. Очистка рослин. Після збору рослини можуть бути очищені від бруду та забруднення, наприклад, від піску, мулу або інших домішок.
4. Відбір проб. Відбираються стандартизовані проби рослин, які будуть використовуватися для дослідження. Проби можна визначити на основі маси або кількості рослин.
5. Транспортування та зберігання. Якщо потрібно перевезти рослини до місця проведення дослідження, використовують пластикові контейнери або тара для зберігання та транспортування. Рослини повинні залишатися вологими під час транспортування та зберігання.
6. Зберігання відповідно до вимог. Зберігати *Lemna minor* необхідно при відповідних температурних та освітлювальних умовах. Вони можуть потребувати світла для фотосинтезу та вологи для підтримки життя.

7. Перевірка на наявність забруднень. Перед початком дослідження перевіряють рослини на наявність забруднень або пошкоджень, які можуть вплинути на результати дослідження.

Рослини було відібрано в місті Київ в озері Голосіївського району. Ряску відібрано за допомогою сачка з поверхні водойми, уникаючи інших рослин та забруднень. Транспортування відбувалось в пластиковому контейнері з озерною водою (Рис. 3).

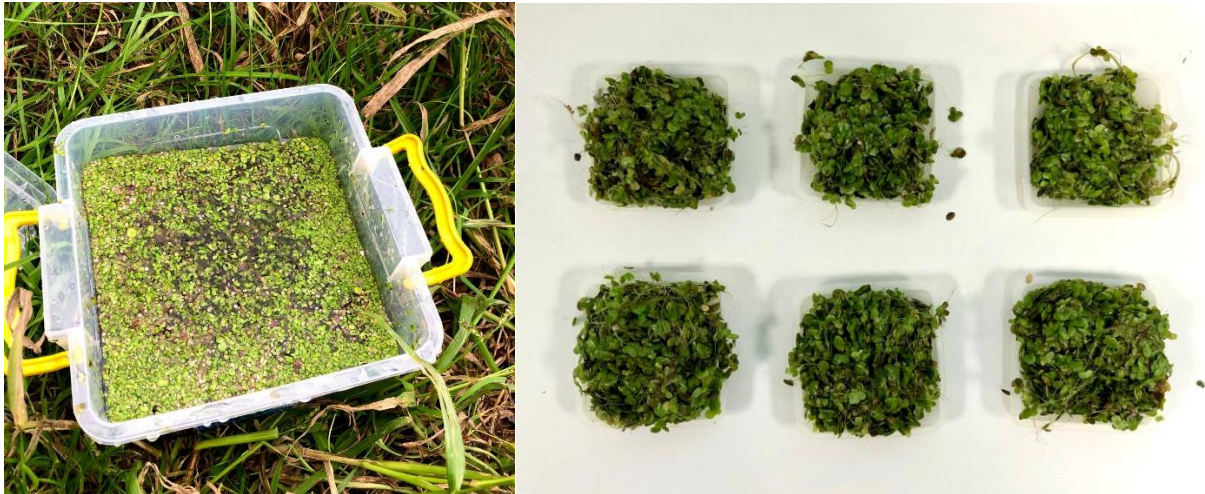


Рисунок 3. Знімки контейнера з відібраною з озера ряскою та проб промитої, розваженої ряски

Після транспортування ряску очищено, використовуючи деіонізовану воду. Далі, за допомогою серветки, видалено залишки води, щоб підготувати рослини до подальшого дослідження. Ряску поділено на порції по 5 грам, забезпечуючи однакову кількість матеріалу для кожного експерименту.

2.2 Методика приготування модельних розчинів з вмістом солей та сульфаметоксазолу

Для визначення ефективності вилучення сульфаметоксазолу ряскою *Lemna minor* було приготовано модельний розчин з використанням солей NaHCO_3 , NaCl та K_2SO_4 для імітації стічної води після попередніх етапів очищення таких, як:

1. Попередня обробка (проціджування) з видаленням твердих частинок та сміття, а також відстоювання.

2. Фільтрація. Під час фільтрації стічна вода проходить через спеціальні фільтри або матеріали (пісок, глина, або активоване вугілля), які здатні утримувати суспендовані частки та інші тверді речовини. Цей процес допомагає зменшити вміст твердих частинок у воді та підготувати її для подальшої обробки.

3. Адсорбція. Під час цього процесу розчинені речовини або молекули збираються на поверхні адсорбенту, який є матеріалом, що використовується для видалення забруднень з води. Для видалення антибіотиків можуть використовуватися різні адсорбенти, такі як активоване вугілля, залізні або алюмінієві солі, або спеціально оброблені полімери.

4. Суперфільтрація. Це передовий метод обробки води, який використовує мембранні фільтри для видалення забруднень з води на молекулярному рівні. Суперфільтрація дозволяє видаляти з води не лише суспендовані частки і тверді речовини, але й розчинені речовини, включаючи антибіотики, бактерії і інші забруднюючі речовини.

На аналітичних терезах відміряли наважку кожної з вищеназваних солей масою 200 мг та перенесли у колбу з градуванням об'ємом 1000 мл. Додали відповідно 1000 мл дистильованої води та ретельно перемішали. Приготований модельний розчин містить концентрацію кожної солі - NaHCO_3 , NaCl та K_2SO_4 , по 200 мг/дм³.

Наступним етапом є приготування розчинів сульфаметоксазолу в концентраціях 0,25, 0,5 та 3 мг/ дм³.

Спочатку приготовано розчин в DMSO з високою концентрацією 10000 мг/дм³: на аналітичних вагах відважено 10 мг сухої речовини сульфаметоксазолу чистотою 95%, далі до наважки додається 950 мкл DMSO та ретельно перемішується на мішалці до повного розчинення. Наступним етапом є внесення даного розчину у розчин солей в деіонізованій воді.

Для приготування розчину з концентрацією 0,25 мг/дм³ необхідно додати 62,5 мкл розчину з концентрацією 10000 в 250 мл розчину солей.

Для приготування розчину з концентрацією 0,5 мг/дм³ необхідно додати 125 мкл розчину з концентрацією 10000 в 250 мл розчину солей.

Для приготування розчину з концентрацією 3 мг/дм³ необхідно додати 750 мкл розчину з концентрацією 10000 в 250 мл розчину солей.

Методика приготування калібрувальних розчинів

Взято калібрувальні точки: бланк, 0,1, 0,25, 0,5 1, 2, 4 мг/дм³ (рис. 3).

Для приготування калібрувального розчину з концентрацією 4 мг/дм³ спочатку необхідно додати 10 мкл розчину з концентрацією 10 мг/мл в 990 мкл метанолу (90%). Далі 40 мкл отриманого розчину необхідно внести в 960 мкл розчину солей. Далі цей розчин використовувати для приготування наступних.

Таблиця 2. Приготування калібрувальних розчинів

Концентрація, мг/дм ³	Метанол (90%), мкл	Розчин антибіотику, мкл
2	500	500
1	500	500
0,5	500	500
0,25	400	600

Для приготування бланку необхідно 60 мкл розчину солей додати в 540 мкл 90% метанолу з вмістом пропранололу 0,5 мкМ.



Рисунок 4. Розташування калібрувальних розчинів в платі

Всі приготовані розчини було перенесено за допомогою піпетки у відповідні віалки з точними позиціями на платі. Плата з віалками потім була вставлена в мас-спектрометр. Далі, у програмі Analyst, необхідно було вручну вказати позицію кожної віалки.

2.3 Хімічні речовини та аналітична система

Всі вимірювання були проведені з використанням системи вискоефективної рідинної хроматографії від Shimadzu. Мас-спектрометричний аналіз був проведений за допомогою гібридного трійного квадрупольно-лінійного іонного лову мас-детектора 4000 QTRAP з іонним джерелом Turbo V (AB Sciex, Канада). Захоплення даних і управління системою виконувалися за допомогою програмного забезпечення Analyst 1.6.3 від AB Sciex. Phenomenex Luna® C18 HPLC column, 2.1x50 mm, 5 µm (Cat #5291-126).

Таблиця 3. Використані хімічні речовини

Речовина	Виробник
ДМСО	Sigma-Aldrich, USA; Cat# 34869
Ацетонітрил	Sigma-Aldrich, USA; Cat# 34851
Метанол	VWR Chemicals, USA, Cat# 20864.320
Мурашина кислота	Sigma-Aldrich, 94318
Пропранолол	Sigma-Aldrich, P0884
Сульфаметоксазол	Enamine

2.4 Опис експериментальних установок

Для виконання наукових досліджень були використані експериментальні системи у вигляді біореакторів об'ємом 200 мл, виготовлених із пластикових матеріалів. У загальній складності було використано 12 таких модельних біореакторів (Рис. 5).

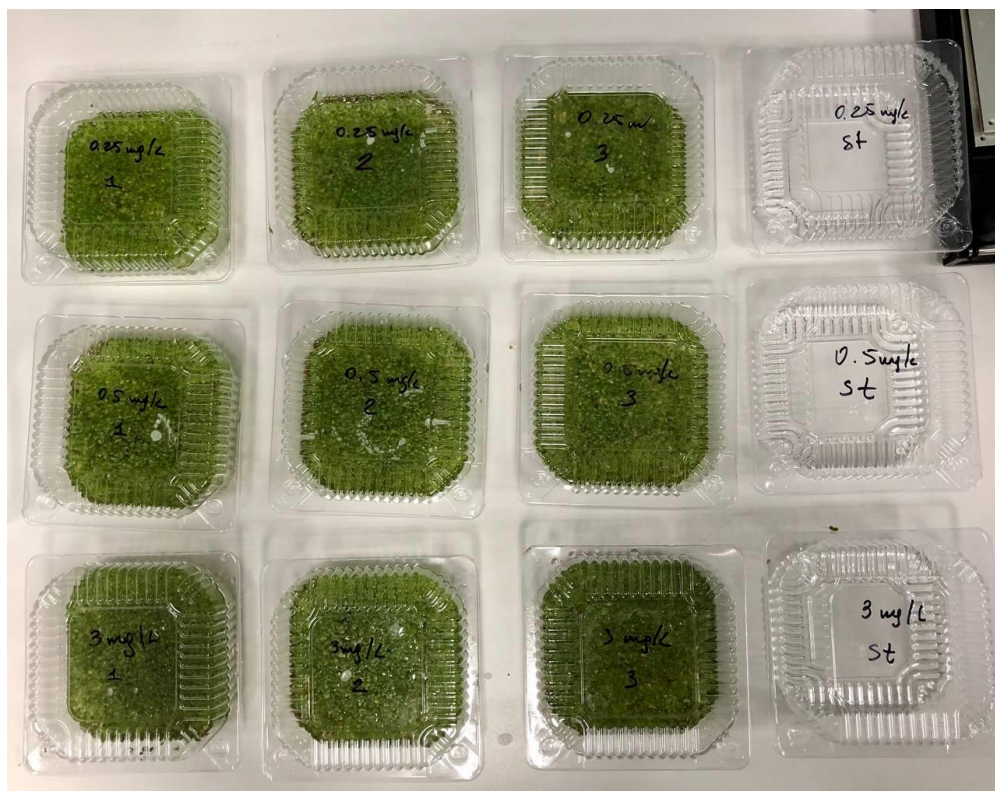


Рисунок 5. Фото моделей біологічних реакторів для проведення експерименту

Для проведення кожного окремого дослідження, наповнювали цей міні-біореактор модельним розчином об'ємом 100 мл, додаючи в нього біологічний рослинний матеріал масою 5 грам. Товщина ряски при цьому дорівнювала 3 мм. Далі моделі біологічних реакторів залишали протягом визначеного часового інтервалу з безпосереднім доступом до сонячного світла.

2.5 Методика проведення експерименту

Проведення експерименту проходило в декілька етапів. Температура в приміщенні при проведенні експерименту сягала 25 °С, температура води – 22. Світловий режим дослідження передбачав неперервний доступ ряски *Lemna minor* до штучного освітлення протягом всього експерименту.

Розміри ємності, у якій проводився експеримент, 10x10x4 см. Усі експерименти поділялись на дві серії – визначення ефективності очищення модельного розчину ряскою та визначення стабільності антибіотику у водному розчині без ряски:

1. Оцінка ефективності очищення модельного розчину за допомогою ряски при концентраціях сульфаметоксазолу 0,25, 0,5 та 3 мг/дм³. У всіх установках об'єм модельного розчину складав 100 мл. Тривалість експерименту становила 80 годин. В експерименті використовували 9 модельних установок. Біологічним матеріалом була вища водна рослина *Lemma minor*. Маса ряски для кожної установки становила 5 г. Всі досліди проводилися в абсолютно однакових умовах.
2. Визначення стабільності антибіотику у водному розчині без ряски з концентрацією Сульфаметоксазолу 0,25, 0,5 та 3 мг/дм³. У всіх установках об'єм модельного розчину складав 100 мл. Тривалість експерименту становила 80 годин. Використано 3 шт модельних установок. Всі досліди проводилися в абсолютно однакових умовах.

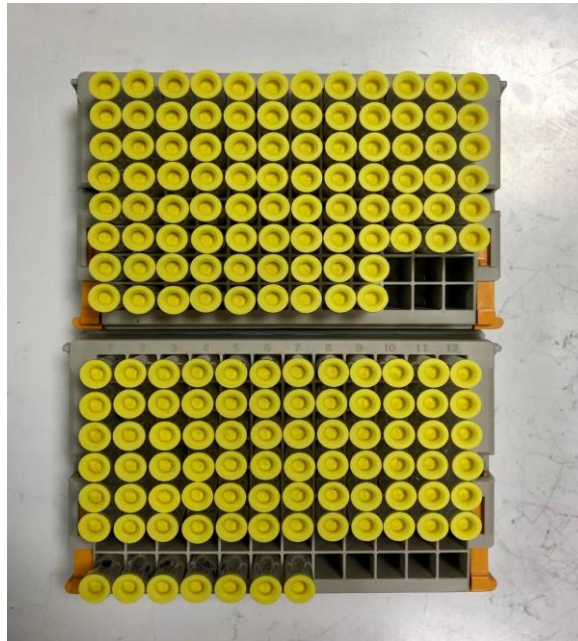


Рисунок 6. Фото розташування всіх віалок з досліджуваними зразками у
платах

Усі проби були відібрано у віалки, які були розміщені в спеціальну плату для проведення мас-спектрометричного аналізу (див. Рис. 6). Ця плата дозволяє розташувати проби відповідно до конкретного експерименту та забезпечити їхню стабільну фіксацію під час аналізу.

Отримані дані з мас-спектрометричного аналізу були оброблені за допомогою комп'ютерних програм, таких як Analyst та Microsoft Excel. Програма Analyst використовувалася для визначення масових спектрів піків та

інших параметрів, що характеризують хімічні сполуки у зразках. Після цього дані були імпортовані до Microsoft Excel для подальшого детального аналізу, включаючи побудову графіків, розрахунки статистичних параметрів та інші обчислення.

2.6 Методика вимірювання концентрації сульфаметоксазолу в дослідних розчинах

Методика вимірювання концентрації сульфаметоксазолу в дослідних розчинах за допомогою LC-MS (рідинна хроматографія з маспектрометрією) включає наступні етапи:

Підготовка зразка:

- Приготування дослідного розчину сульфаметоксазолу в ДМСО відповідно до методики, описаної в розділі 2.2.
- Проведення експерименту та отримання зразків для аналізу з відповідним розташуванням їх в платі.

Налаштування та оптимізація LC-MS:

- Розробка методу для сульфаметоксазолу та вибір дочірніх іонів для аналізу.
- Встановлення параметрів, таких як: потік розчинника, температура колонки, градієнт розчинників і інші, для досягнення оптимальної роздільної здатності.

Інжекція зразка:

- Розробка схеми послідовностей відбору зразків та налаштування автосамплера.
- Підбір об'єму інжекції перед послідовним аналізом всіх зразків.

Хроматографічний аналіз:

- Застосування хроматографії для розділення компонентів розчину [25].
- Спостереження за розходженням речовин на основі їх ретенційного часу.

Маспектрометричний аналіз:

- Перенаправлення розділених компонентів в маспектрометр для аналізу масового спектра.

- Ідентифікація іонів, характерних для сульфаметоксазолу.

Калібрування і кількісний аналіз:

- Проведення калібрування з використанням стандартних розчинів сульфаметоксазолу різних концентрацій.
- Визначення концентрації сульфаметоксазолу у власному зразку на основі калібрувальних кривих.

Аналіз даних:

- Обробка даних маспектрометричного аналізу за допомогою програми Analyst.
- Кількісний аналіз на основі калібрування для точного визначення концентрації сульфаметоксазолу у зразках.

Оформлення даних:

- Систематичне представлення отриманих результатів в формі графіків, таблиць та інших візуальних матеріалів.

2.7 Методика визначення параметрів ефективності процесу очищення

Ефективність видалення антибіотику ряскою є параметром, який вказує на ступінь успішності процесу очищення води від антибіотичних речовин. Це значення обчислюється з врахуванням початкової та кінцевої концентрації антибіотику у водному середовищі після впливу ряски [34].

Ефективність видалення антибіотику, %, визначали за формулою:

$$E = \frac{C_{\text{поч}} - C_{\text{кін}}}{C_{\text{поч}}} \cdot 100, \% , \quad (2.7.1)$$

де $C_{\text{поч}}$ – початкова концентрація антибіотику у воді, мг/дм³; $C_{\text{кін}}$ – концентрація антибіотику після взаємодії з ряскою, мг/дм³.

Отримане значення ефективності видалення вказує на відсоток зменшення концентрації антибіотику за певний період часу під впливом ряски. Цей параметр є ключовим для визначення ефективності використання ряски в процесі очищення води від антибіотичних забруднень.

Розрахунок питомої біомаси ряски в біореакторі – це визначення кількості біомаси ряски (*Letna minor*) на одиницю об'єму чи площі в

біологічному реакторі. Цей показник вказує на густоту ряски в системі та дозволяє оцінити ефективність використання ряски для очищення води або інших процесів.

Розрахунок питомої біомаси ряски в біореакторі:

$$B = \frac{m_{\text{ряски}}}{V}, \frac{\text{г}}{\text{дм}^3}, \quad (2.7.2)$$

де $m_{\text{ряски}}$ – маса ряски, яку було внесено в ємність з модельним розчином, г; V – об'єм модельного розчину з ряскою, дм^3 .

Питоме навантаження антибіотика на ряску є величиною, яка визначає масу антибіотика, яка припадає на одиницю маси ряски за одиницю часу. Цей показник вимірюється у міліграмах антибіотика на грам ряски за добу і вказує на те, яка маса антибіотика припадає на одиницю маси ряски протягом доби. Це значення вказує на навантаження конкретного антибіотика на ряску при надходженні стічної води в біореактор [16].

Питоме навантаження антибіотика на ряску в мг антибіотика на г ряски за добу визначали за формулою:

$$q_{\text{ант}} = \frac{C_{\text{поч}} \cdot 24}{t \cdot B}, \frac{\text{мг}}{\text{г} \cdot \text{доба}}, \quad (2.7.3)$$

де $C_{\text{поч}}$ – початкова концентрація антибіотика у воді, $\text{мг}/\text{дм}^3$; t – тривалість контакту розчину антибіотика з ряскою, год; B – питома біомаса ряски в біореакторі, $\text{г}/\text{дм}^3$.

Питома швидкість видалення антибіотика в біореакторі виражає кількість антибіотика, яку видаляє біореактор за одиницю об'єму протягом однієї доби. Цей параметр вимірюється у міліграмах антибіотика на дециметр кубічний ($\text{мг}/\text{дм}^3$) на добу і розраховується за формулою:

$$\rho_{\text{ант}} = \frac{(C_{\text{поч}} - C_{\text{кін}}) \cdot 24}{t \cdot B}, \frac{\text{мг}}{\text{дм}^3 \cdot \text{доба}}, \quad (2.7.4)$$

де $C_{\text{поч}}$ – початкова концентрація антибіотика у воді, $\text{мг}/\text{дм}^3$; $C_{\text{кін}}$ – концентрація антибіотика після взаємодії з ряскою, $\text{мг}/\text{дм}^3$; t – тривалість контакту розчину антибіотика з ряскою, год; B – питома біомаса ряски в розчині, $\text{г}/\text{дм}^3$.

Це значення важливе для оцінки ефективності біореактора у видаленні антибіотика з водного середовища. Висока питома швидкість видалення свідчить про ефективність біореактора у видаленні антибіотиків. Цей параметр може використовуватися для моніторингу та оптимізації процесів біологічного очищення води від забруднень [13].

Висновки до розділу 2

1. Експериментальні дослідження, спрямовані на визначення ефективності очищення води від антибіотика сульфаметоксазолу, виконані у лабораторії Єнаміну.

2. Для досягнення точних результатів були обрані та ретельно описані методики досліджень, які визначали концентрацію антибіотика. Також були детально розглянуті процедури підготовки біологічного матеріалу у вигляді вищих водних рослин *Letna minor*. У роботі представлені як підготовчі етапи, так і основні кроки проведення експериментів, включаючи підготовку калібрувальних розчинів. Подано повний перелік обладнання та приладів, які були використані для проведення всіх серій дослідів.

3. В розділі надано всі необхідні формули для розрахунку даних, що були отримані під час експериментів.

4. Детально описано основні характеристики обраних і використаних модельних установок, що дає змогу зрозуміти умови та параметри експериментів, а також їх важливість і вплив на отримані дані.

Розділ 3 Результати дослідження з очищення модельних розчинів від сульфаметоксазолу

Експериментальний етап полягав у застосуванні біологічного методу для очищення модельних розчинів від сульфаметоксазолу. Було використано обрані вищі водні рослини виду *Lemna minor*. Модельні розчини з антибіотиком приготовано у трьох концентраціях: 0,25 мг/дм³, 0,5 мг/дм³ та 3 мг/дм³. Зразки брались у трьох повторах і піддавались аналізу за допомогою мас-спектрометра, використовуючи методику вискоелективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Після цього відношення площі піків речовини до площі піків внутрішнього стандарту обчислювали в програмному забезпеченні Analyst (Рис. 7).

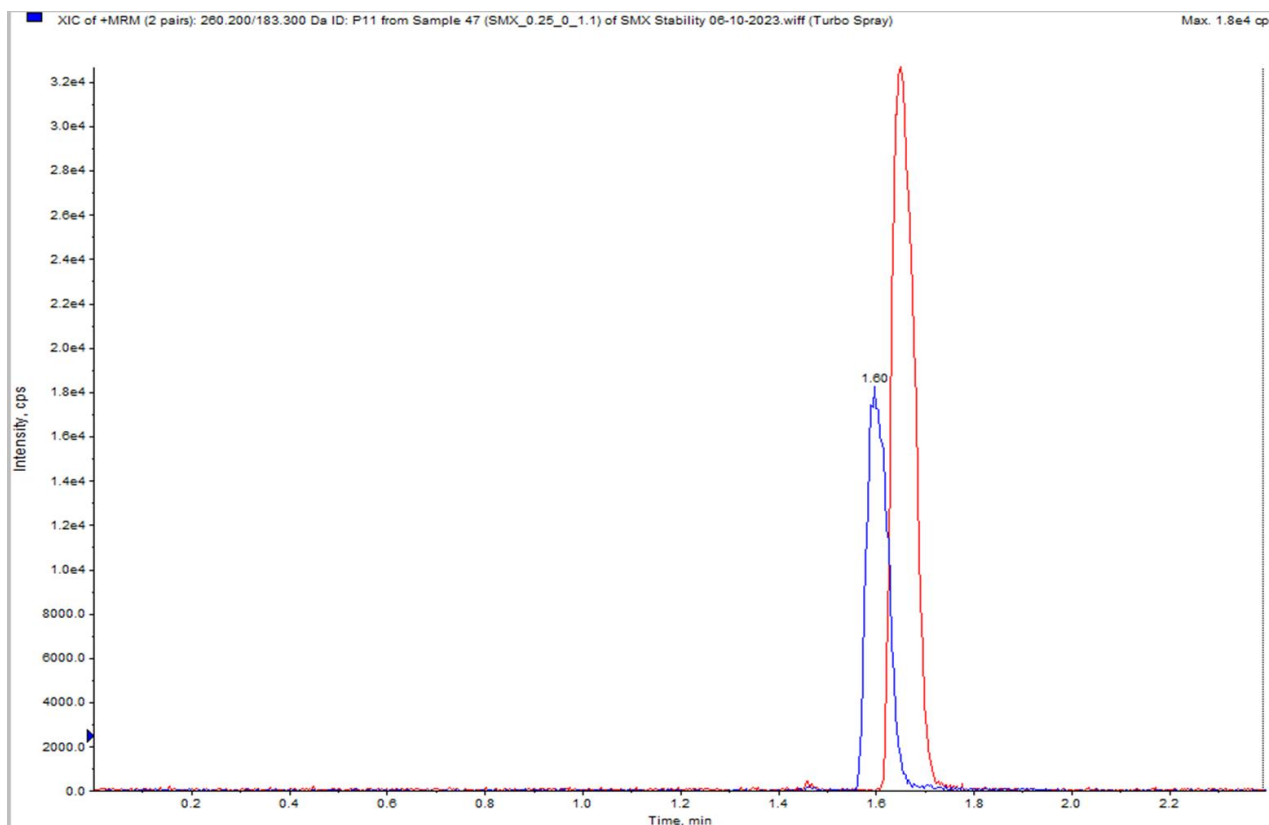


Рисунок 7. Приклад отриманих результатів. Точка 0 годин з концентрацією антибіотику 0.25 мг/дм³ (червоний пік) та внутрішній стандарт – пропранолол (синій пік).

Підготовка модельних розчинів була виконана відповідно до методики, описаної у розділі 2.2 цієї роботи, та експериментальна установка була влаштована відповідно до вказівок, поданих в розділі 2.6. Проведення

експериментальної частини відповідало методиці, описаній в пункті 2.7 розділу 2 цієї роботи.

Всі дослідження були структуровані на кілька етапів та проведені у сучасній лабораторії з дотриманням всіх необхідних стандартів техніки безпеки.

Розрахунок кількості речовини в зразках розраховано програмою по калібровці (Рис. 8).

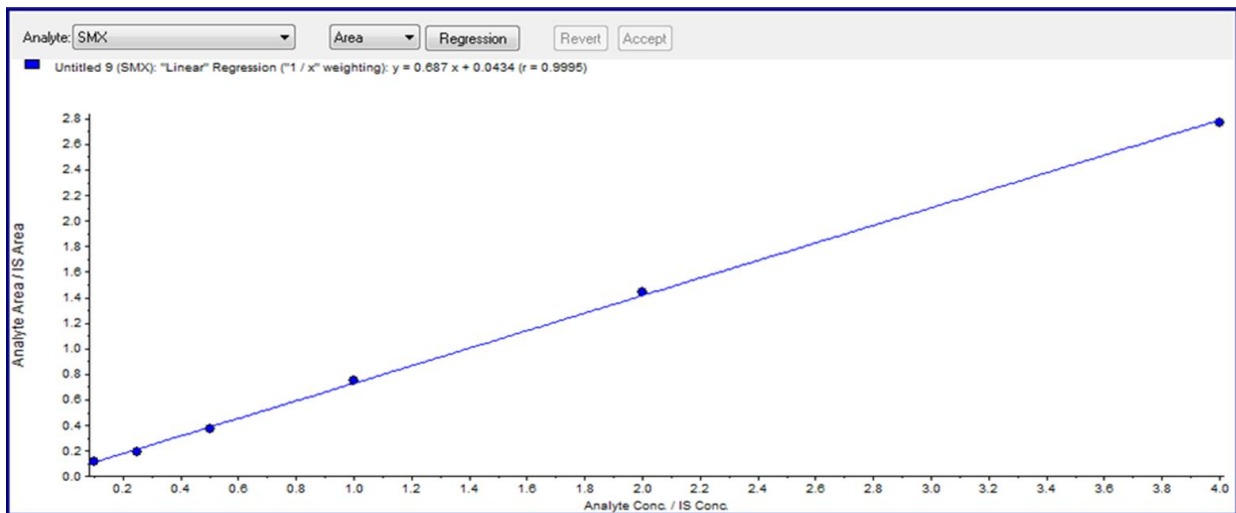


Рисунок 8. Калібрувальна крива в програмі Analyst.

Коефіцієнт кореляції становить 0,9995, що вказує на високу позитивну лінійну залежність між двома змінними. У контексті калібрувальних розчинів, це означає, що вони були приготовані вірно і дотримані відповідні пропорції для створення лінійної залежності між концентрацією речовини у розчині та вимірним сигналом аналітичного приладу (мас-спектрометра). Такий високий рівень кореляції підтверджує правильність процедури приготування калібрувальних розчинів та їх відповідність вимогам дослідження.

3.1 Визначення розрахункових параметрів процесу

Було проведено два паралельних експерименти, що проходили за однакових умов протягом 80 годин. Перший експеримент являв собою дослідження здатності поглинання ряскою антибіотика, було досліджено цей процес при трьох різних концентраціях сульфаметоксазолу 0,25 мг/дм³, 0,5 мг/дм³ та 3 мг/дм³. У другому експерименті досліджувалась стабільність антибіотика у водному розчині при тих самих умовах та концентраціях. Часові

точки відбору зразків для аналізу: 0 год, 5 год, 24 год, 30 год, 45 год, 49 год, 52 год, 55 год, 80 год. Для дослідження використовувалися однакові пластикові контейнери: 9 штук для першого експерименту і 3 штук для другого. Моделі біологічних ставків розташували в одному місці з безперервним освітленням.

Ефективність очищення було розраховано за допомогою співвідношення площі піків речовини до внутрішнього стандарту (Рис. 9).

Отримані результати наведено в Таблиці 3.

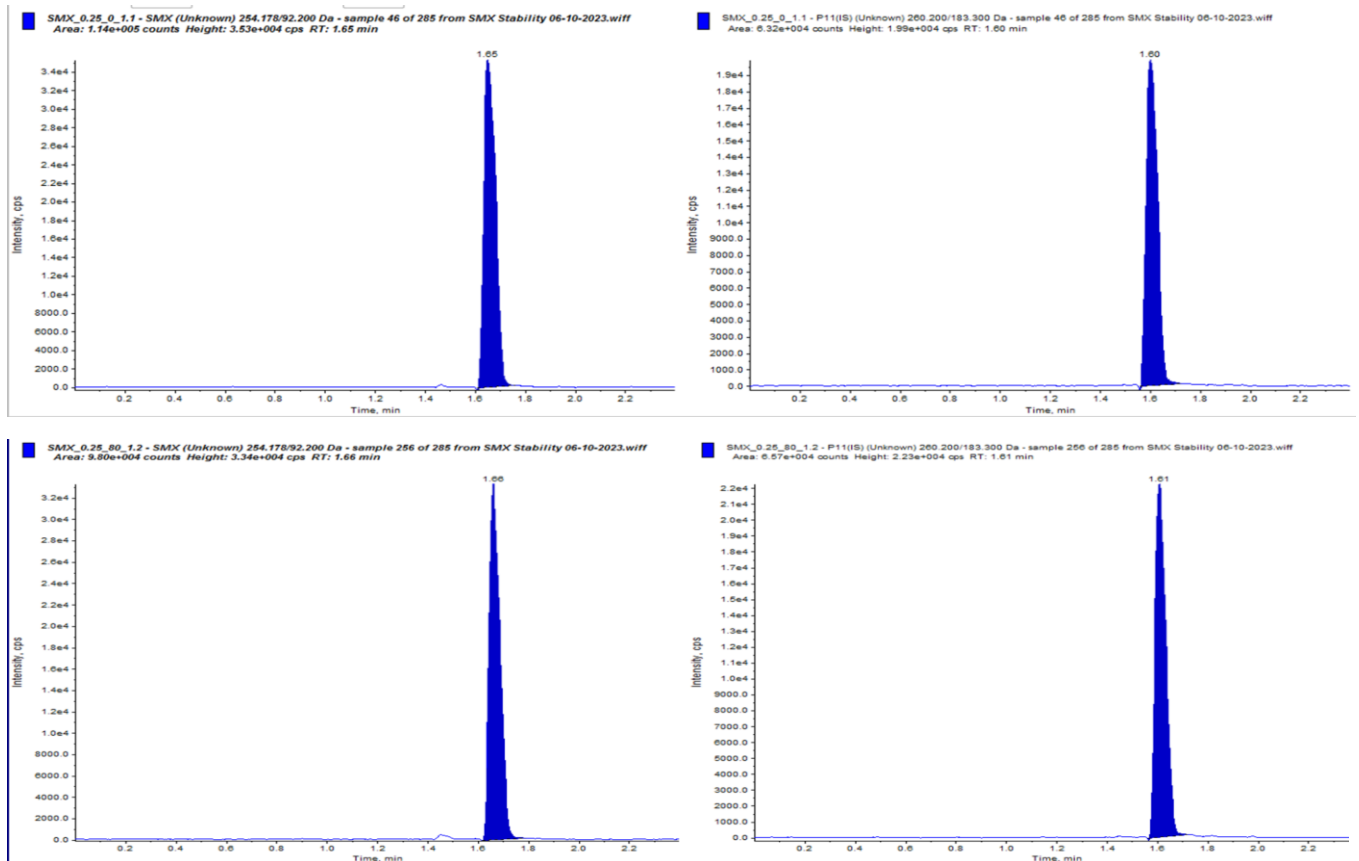


Рисунок 9. Пік антибіотику (ліва частина) та пік внутрішнього стандарту (права частина) в нульовій точці (зверху) та кінцевій (знизу)

На отриманих хроматографіях видно, що речовина виходить на 1,66 хвилині, а внутрішній стандарт на 1,60. Піки вузькі та симетричні – це вказує на те, що речовини добре вимиваються з колонки (не є занадто гідрофільними чи гідрофобними), тобто отримані результати розрахунків будуть валідними.

Таблиця 3. Зміна вимірних значень концентрації антибіотику в залежності від часу після початку проведення дослідження

Тривалість процесу, год	Концентрація антибіотику, мг/дм ³		
	0,25	0,5	3
0	0,250	0,500	3,000
5	0,250	0,500	3,000
24	0,232	0,466	2,868
30	0,230	0,454	2,805
45	0,214	0,432	2,506
49	0,221	0,430	2,501
52	0,218	0,420	2,540
55	0,221	0,404	2,533
80	0,210	0,376	2,458

У таблиці представлені середні значення концентрації антибіотику в певні часові точки. Кожне з цих значень є результатом усереднення трьох паралельних експериментів, оскільки кожна концентрація була виміряна у трьох повторних випробуваннях, при яких з кожного було взято три зразки. На даному етапі вже можна зазначити, що отримано позитивний результат, адже значення помітно зменшились.

3.2 Вплив тривалості контакту модельного розчину антибіотику з ряскою на ефективність його видалення з розчину

На основі отриманих даних побудовано графіки, які відображають залежність концентрації антибіотику від тривалості контакту з ряскою для модельних розчинів: 0,25 мг/дм³, 0,5 мг/дм³ (Рис. 10) та 3 мг/дм³ (Рис. 11).

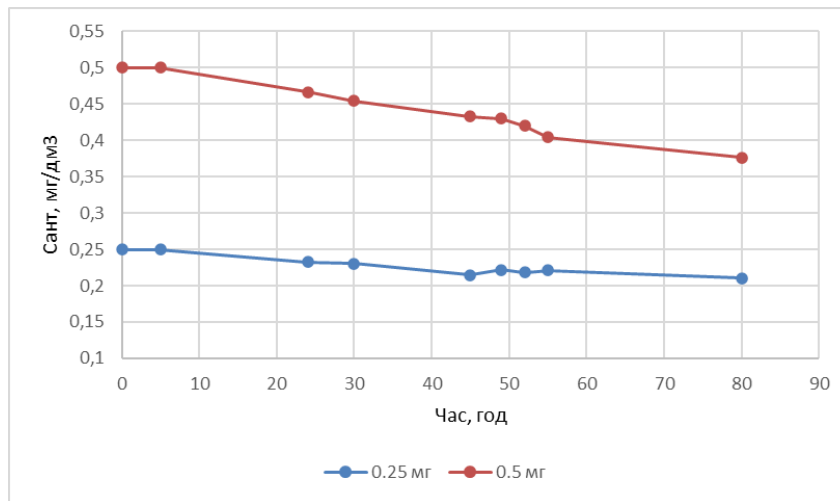


Рисунок 10. Зміна концентрації антибіотику у модельних розчинах ($C_{\text{поч}} = 0.25 \text{ мг/дм}^3$ та 0.5 мг/дм^3) в залежності від тривалості процесу взаємодії з ряскою

З графіку видно, що наявність ряски впливає на концентрацію антибіотику, взаємодія відбувається протягом тривалого часу. Також можна побачити, що розчин сульфаметоксазолу з концентрацією 0.5 мг/дм^3 інтенсивніше утилізується ряскою.

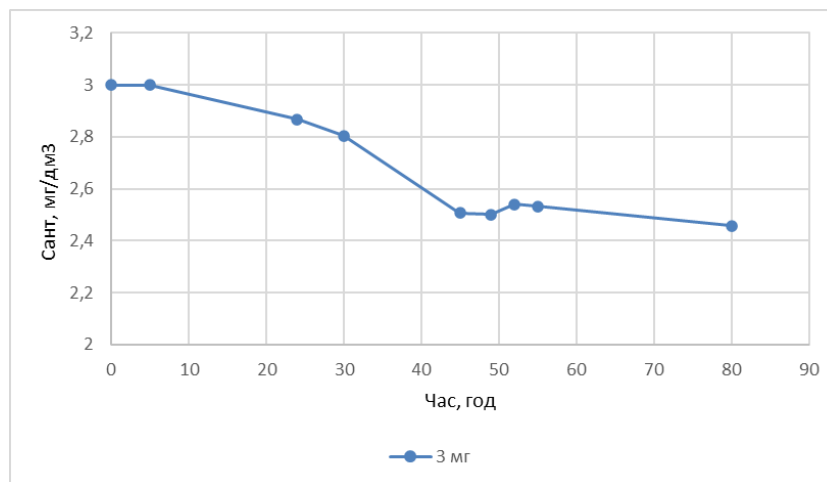


Рисунок 11. Зміна концентрації антибіотику у модельних розчинах ($C_{\text{поч}} = 3 \text{ мг/дм}^3$) в залежності від тривалості процесу взаємодії з ряскою

З аналізу графіка можна зробити висновок, що присутність ряски має вплив на концентрацію антибіотику, і ця взаємодія триває протягом значного періоду часу.

Також було отримано дані перевірки сульфаметоксазолу на його стабільність в сольовому розчині без ряски в тих самих умовах. Після чого було побудовано графіки, які відображають стабільність концентрації

антибіотика від тривалості експерименту для трьох модельних розчинів: 0,25 мг/дм³, 0,5 мг/дм³ (рис. 12) та 3 мг/дм³ (рис. 13).

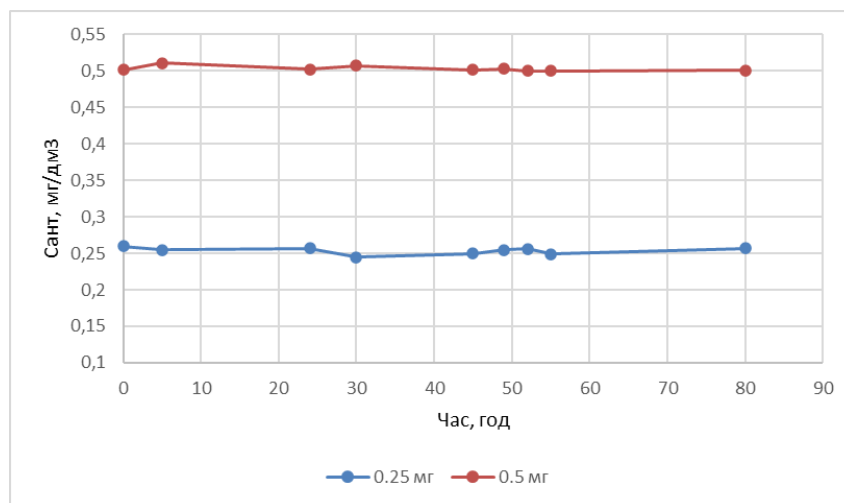


Рисунок 12. Зміна концентрації антибіотика у модельних розчинах ($C_{\text{поч}} = 0.25 \text{ мг/дм}^3$ та 0.5 мг/дм^3) в залежності від тривалості експерименту без ряски

Можна зазначити, що антибіотик стабільний в розчині з концентрацією $C_{\text{поч}} = 0.25 \text{ мг/дм}^3$ та 0.5 мг/дм^3 без ряски протягом всього експерименту, що свідчить про те, що саме ряска викликала вплив на концентрацію сульфаметоксазолу.

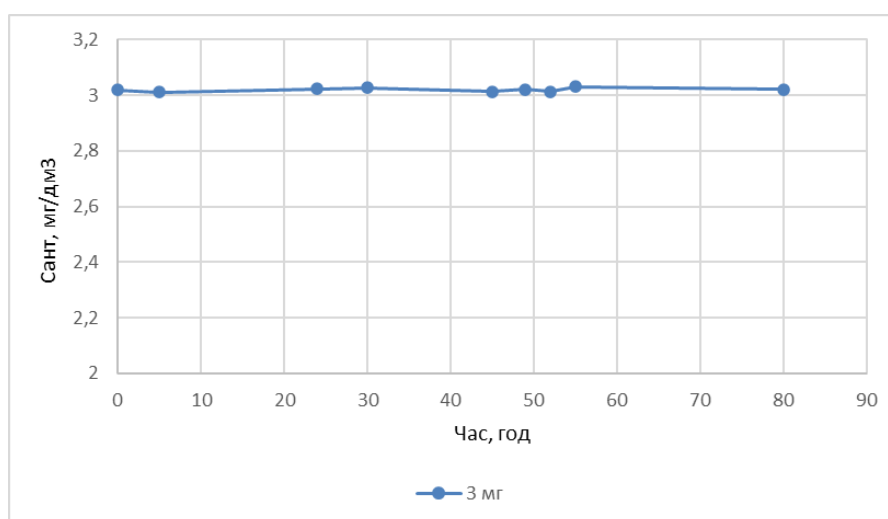


Рисунок 13. Зміна концентрації антибіотика у модельних розчинах ($C_{\text{поч}} = 3 \text{ мг/дм}^3$) в залежності від тривалості експерименту без ряски

Антибіотик стабільний в розчині з концентрацією $C_{\text{поч}} = 3 \text{ мг/дм}^3$ без ряски протягом всього експерименту. З цього слідує, що концентрація антибіотика не впливає на його стабільність в сольовому розчині.

Ефективність видалення антибіотику визначали за формулою 2.7.1. Отримані дані зображені на Рисунку 14.

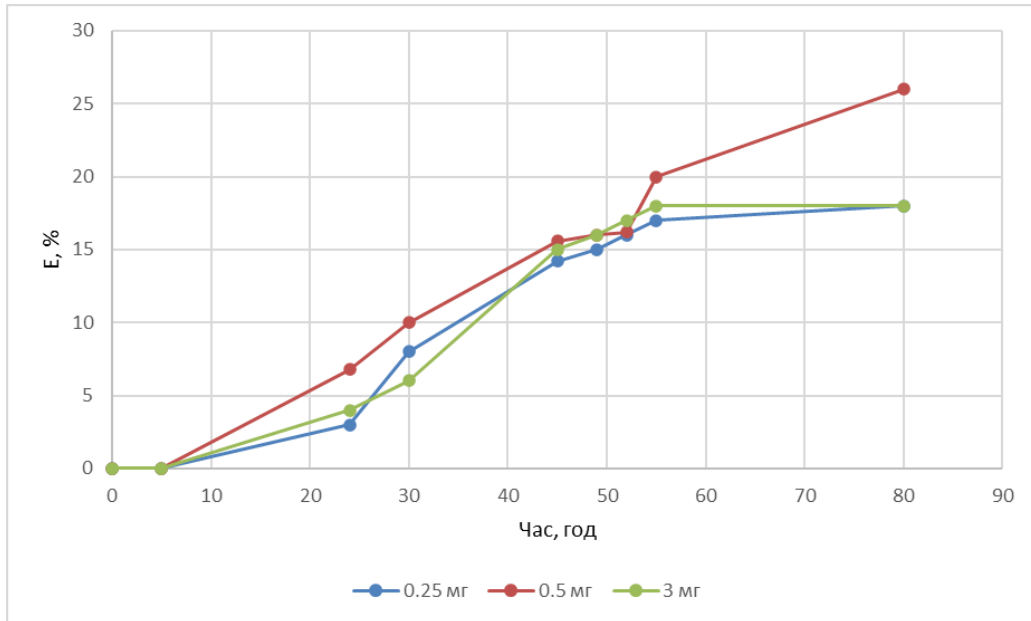


Рисунок 14. Зміна ефективності очищення модельних розчинів від антибіотику в залежності від тривалості процесу

На отриманих графіках можна побачити динаміку видалення сульфаметоксазолу ряскою з різних модельних розчинів протягом часу. З плином часу кількість видаленого антибіотику збільшується, що свідчить про ефективність процесу очищення.

Для проведення подальших розрахунків визначено оптимальні параметри, зокрема обрано концентрацію 0,5 мг/дм³, оскільки саме при цьому значенні було зафіксовано максимальну ефективність процесу очищення. Проміжок часу для проведення дослідів був обраний на рівні 55 годин з метою оптимізації вартості методу, при цьому забезпечуючи ефективність процесу очищення на вищому рівні.

Значення питомої біомаси ряски в біореакторі розраховано за формулою 2.7.2 та становить:

$$B = \frac{m_{\text{ряски}}}{V} = \frac{5}{0,1} = 50 \text{ г/дм}^3$$

Питоме навантаження антибіотику, що міститься в СВ, на ряску в мг антибіотику на г ряски за добу визначали за формулою 2.7.3:

$$q_{\text{ант}} = \frac{C_{\text{поч}} \cdot 24}{t \cdot V} = \frac{0,5 \cdot 24}{55 \cdot 50} = 4,4 \frac{\text{мкг}}{\text{г} \cdot \text{доба}}$$

Питома швидкість видалення антибіотику в мг на г ряски за добу згідно формули 2.7.4:

$$\rho_{\text{ант}} = \frac{(C_{\text{поч}} - C_{\text{кін}}) \cdot 24}{t \cdot V} = \frac{(0,5 - 0,376) \cdot 24}{55 \cdot 50} = 1,1 \frac{\text{мг}}{\text{г} \cdot \text{доба}}$$

Отримані результати свідчать, що протягом 55 годин початкова концентрація антибіотику у розчині (0,5 мг/дм³) зменшилась до 0,37 мг/дм³, що становить 26% від початкової концентрації антибіотику в модельному розчині.

При меншій концентрації антибіотику (0,25 мг/дм³) ефективність видалення з модельного розчину становила 20%, тоді як при високій концентрації - 3 мг/дм³, вона складала 18%.

Антибіотик виявив стабільність у водному розчині без участі ряски, що підтверджує можливість подальшого використання сульфаметоксазолу для подальших досліджень.

Висновки до розділу 3

1. Встановлено, що ряска роду *Lemna minor* проявляє здатність абсорбувати антибіотик (сульфаметоксазол) з водних розчинів. Ефективність очищення води від антибіотику залежала від початкової концентрації антибіотику у розчині. При вихідній концентрації 0,5 мг/дм³ ряска абсорбувала приблизно 26% антибіотику протягом 80 годин. При інших початкових концентраціях антибіотику (0,25 мг/дм³ та 3 мг/дм³) ефективність очищення становила відповідно 20% і 18%.

2. Розчин з концентрацією 0,5 мг/дм³ проявив найбільш високий рівень ефективності видалення антибіотику. В той же час, розчин із меншою концентрацією, а саме 0,25 мг/дм³, показав менші результати. Такий ефект може бути пояснений можливою похибкою вимірювань, обумовленою низькою концентрацією антибіотику, що може бути за межами точності вимірювальних приладів.

3. Зазначено, що при збільшенні концентрації антибіотика спостерігається зниження ефективності його видалення ряскою. Це може вказувати на те, що при високих концентраціях антибіотика може виникати насичення поглиблюючих можливостей ряски, що призводить до зменшення ефективності очищення в таких умовах.

4. При розрахунках з підбором оптимальних значень було отримано такі результати:

- Значення питомої біомаси ряски в біореакторі становить: $50 \frac{\text{г}}{\text{дм}^3}$
- Питоме навантаження антибіотика на ряску: $4,4 \frac{\text{мкг}}{\text{г} \cdot \text{доба}}$
- Питома швидкість видалення антибіотику: $1,1 \frac{\text{мкг}}{\text{г} \cdot \text{доба}}$

Отримані результати свідчать про потенційну ефективність ряски *Lemma minor* у зниженні концентрації антибіотиків у водних середовищах, що є важливим для очищення стічних вод від цього типу забруднення. Подальший ретельний аналіз та проведення додаткових досліджень можуть сприяти встановленню оптимальних умов для максимального видалення антибіотиків за допомогою ряски та удосконалення процесу очищення стічних вод від цих речовин.

4 Розробка стартап-проєкту

Бізнес-ідея цього проєкту передбачає розробку моделі та виконання розрахунків для технології біологічного очищення стічних вод від антибіотика сульфаметоксазолу за допомогою вищих водних рослин *Lemna minor*. Головним об'єктом дослідження є модельні розчини стічних вод з різним вмістом антибіотика, які піддаються біологічному очищенню.

Назва роботи - "Очищення стічних вод від антибіотиків з використанням вищих водних рослин".

Суб'єктами цього проєкту можуть бути підприємства з спорудами біологічного очищення та приватні особи, які мають інтерес до результатів даного дослідження.

Актуальність полягає в тому, що перевищення нормативів скиду антибіотиків до природних водойм призводить до забруднення води, змін її якості та загрози для здоров'я людей та навколишнього середовища.

Метою даної роботи є вибір та обґрунтування оптимальної біотехнології очищення стічних вод від антибіотиків, щоб дотримуватися нормативів щодо скиду стічних вод.

Результатом цього дослідження є створення екологічного впливу на навколишнє середовище в формі очищеної стічної води.

Технологія включає в себе два етапи: перше - класичне біологічне очищення стічних вод, а потім стадію доочищення від антибіотиків за допомогою вищих водних рослин в спеціальних біоставках.

Для виконання всіх технологічних операцій потрібний певний персонал, включаючи апаратників, технологів та начальника лінії очистки з відповідним рівнем кваліфікації та досвідом роботи.

Наш ринок збуту включає комунальні підприємства та приватні особи, які потребують ефективного очищення своїх стічних вод.

Головною конкурентною перевагою є інноваційна ідея, яка не має аналогів на ринку та можливість налаштування параметрів очищення відповідно до вимог клієнтів. У табл. 4.1 представлено узагальнене резюме розробленого стартап-проєкту

Таблиця 4.1. Резюме стартап-проєкту

№ п/п	Показник	Характеристика
1	Сутність ідеї	Розробка та впровадження екологічно чистого та ефективного методу очищення води від антибіотиків за допомогою ряски
2	Наявність аналогів	Наявні аналоги та схожі технології
3	Основна потреба, яку має задовольнити стартап	Ефективне очищення стічних вод від антибіотиків
4	Ступінь розробленості технології реалізації	Середній, потребує інвестицій
5	КВЕД, до якого належить дане виробництво	Е
6	Очікувана потужність виробництва	Висока або середня
7	За масштабом виробництва	На початковій стадії малий або середній проєкт
8	За рівнем спеціалізації	Вузько спеціалізований, комбінований
9	За споживаними ресурсами	Матеріаломісткий
10	За чисельністю персоналу	Середнього розміру
11	Органи управління при реалізації стартапу	Національні
12	Бажане географічне розташування	Україна
13	Місце ідеї у ланцюгу цінностей інноваційного процесу	Прототипування та тестування
14	Ключові фактори успіху стартапу	Зменшення впливу антибіотиків на навколишнє середовище та забезпечення екологічно чистої обробки стічних вод

Продовження таблиці 4.1

15	Споживачі	Комунальні та промислові підприємства, виробництва сільськогосподарської продукції, екологічні організації
16	Планова кількість продукту	В процесі аналізу
17	Джерела фінансування	Зовнішні, внутрішні
18	Планове місце реалізації результату	Україна
19	Наявність посередників	Відсутні
20	Методи просування результатів розробки на ринок	Розвиток стратегічних партнерств з іншими компаніями або організаціями, які можуть допомогти у впровадженні та просуванні продукту

4.1 Аналіз внутрішнього середовища підприємства

Таблиця 4.1.1 – Внутрішні фактори підприємства [35]

Переваги	Недоліки
<p>1. Повторне використання вищих водних рослин.</p> <p>2. Безпека та екологічність даного методу.</p> <p>3. Можливість налаштування процесів очищення стічних вод.</p> <p>4. Мінімізація потреби в великій кількості обслуговуючого персоналу.</p> <p>5. Відсутність конкуренції</p>	<p>1. Капіталовкладення на побудову очисних споруд;</p> <p>2. Контроль процесів очищення;</p> <p>3. Залежність від погодних та сезонних умов;</p> <p>4. Періодичний контроль кількості рослинної біомаси;</p>

4.2 Аналіз зовнішнього середовища підприємства

Таблиця 4.2.1 – Зовнішні фактори підприємства [36]

Переваги	Недоліки
Політика	
<ul style="list-style-type: none"> - Співпраця з іншими установами та корпораціями; - Впровадження нововведень; - Підтримка зі сторони законодавчих органів; - Механізм штрафів за порушення. 	<ul style="list-style-type: none"> - Воєнний стан в Україні; - Обмежений доступ до фінансування та інвестицій; - Низький пріоритет екологічних питань у політичній програмі; - Відсутність програм підтримки.
Економіка	
<ul style="list-style-type: none"> - Ринок зростаючого попиту; - Зниження витрат на охорону довкілля; - Потенціал для створення нових робочих місць. - Можливість експорту технологій 	<ul style="list-style-type: none"> - Нестабільність ринкових умов та недостатня поширеність технологій; - Низька готовність до інновацій; - інфляція гривні.
Географія	
<ul style="list-style-type: none"> - Різноманітність кліматичних умов - Екологічна проблематика; - Доступ до великої кількості водних джерел; - Зручність експорту в Європу. 	<ul style="list-style-type: none"> - Недостатня інфраструктура - Нестабільність кліматичних умов - Поява нових промислових комплексів; - Замінування великої території України.
Науково-технічний прогрес	
<ul style="list-style-type: none"> - Впровадження нових технологій; - Можливість співпраці з університетами і науковими інститутами; - Доступ до наукових ресурсів. 	<ul style="list-style-type: none"> - Відсутність альтернативних ефективних технологій; - Недостатній фінансовий та технічний ресурс; - Відсутність відповідної інфраструктури
Культура	
<ul style="list-style-type: none"> - Піклування про майбутнє та спадщина нащадкам; - Розвиток туризму і відпочинку 	<ul style="list-style-type: none"> - Необізнаність населення; - Брак зацікавленості у вирішенні проблеми; - Індивідуальний інтерес окремих осіб.

Продовження таблиці 4.2.1

Демографія	
<ul style="list-style-type: none"> - Освіта з даної сфери. - Мінімальна конкуренція. - Перспективи розвитку у цьому напрямку. - Пропаганда екологічної свідомості. 	<ul style="list-style-type: none"> - Недостатня кількість робочих мість.

Таблиця 4.2.2 – Аналіз зацікавлених сторін

Зацікавлена сторона	Її вплив на реалізацію проєкту	Цікавість її до проєкту	Загальний коефіцієнт впливу на проєкт
<i>Суб'єкти зовнішнього оперативного середовища</i>			
Виробник	5	5	5
Постачальник	4	5	4,5
Споживачі	3	3	3
Посередники	1	1	1
<i>Зовнішнє середовище</i>			
Суб'єкти економічного середовища	5	2	3
Політичні структури	2	2	2
Власники географічних об'єктів	1	1	1
Суб'єкти демографії	0	0	0
Суб'єкти культурного середовища	1	1	1
Суб'єкти НТП	4	4	4

4.3 Ключові фактори успіху стартап-проєкту

Основним фактором успіху є те, на що компанія може самостійно впливати в процесі виробництва і продажу продукції. Застосовано метод Шонфільда для створення таблиці компаній та показників, які визначають ключові фактори успіху проєкту (Табл. 4.3.1).

Таблиця 4.3.1 – Фактори успіху по методу Шонфільда [37]

№	Ключові фактори	Коефіцієнт вагомості	Рейтинг розробки		
			Наша продукція	Veolia Water Technologies	Bluewater Bio
1	Вартість, грн	0,16	10	5	6
2	Технологічна перевага	0,16	10	10	9
3	Екологічна ефективність	0,14	9	9	8
4	Ринкова потреба	0,13	8	9	9
5	Партнерство та співпраця	0,11	7	10	8
6	Зацікавленість населення	0,11	7	8	7
7	Конкурентні сили	0,11	7	10	8
8	Фінансова стабільність	0,1	6	10	7

Оцінка здійснюється за десятибальною шкалою, де 10 вважається найвищим рейтингом, а 1 - найнижчим.

Таблиця 4.3.2 – Фактори успіху по методу Шонфільда з оцінкою кожної характеристики для нашої продукції і для конкурентів з урахуванням коефіцієнту вагомості

Характеристика	Бальна оцінка характеристик		
	Наша продукція	Veolia Water Technologies	Bluewater Bio
Вартість, грн	1,6	0,8	0,96
Технологічна перевага	1,6	1,6	1,44
Екологічна ефективність	1,26	1,26	1,12
Ринкова потреба	1,04	1,12	1,12
Партнерство та співпраця	0,77	1,3	0,91
Зацікавленість населення	0,77	0,88	0,77
Конкурентні сили	0,77	1,1	0,88
Фінансова стабільність	0,6	1,1	0,77

На основі отриманих балів створюється графік (Рис. 15), який дозволяє порівняти конкурентні переваги нашого підприємства з іншими компаніями. Цей графік демонструє, як наш проєкт співвідноситься з конкурентами за різними критеріями.

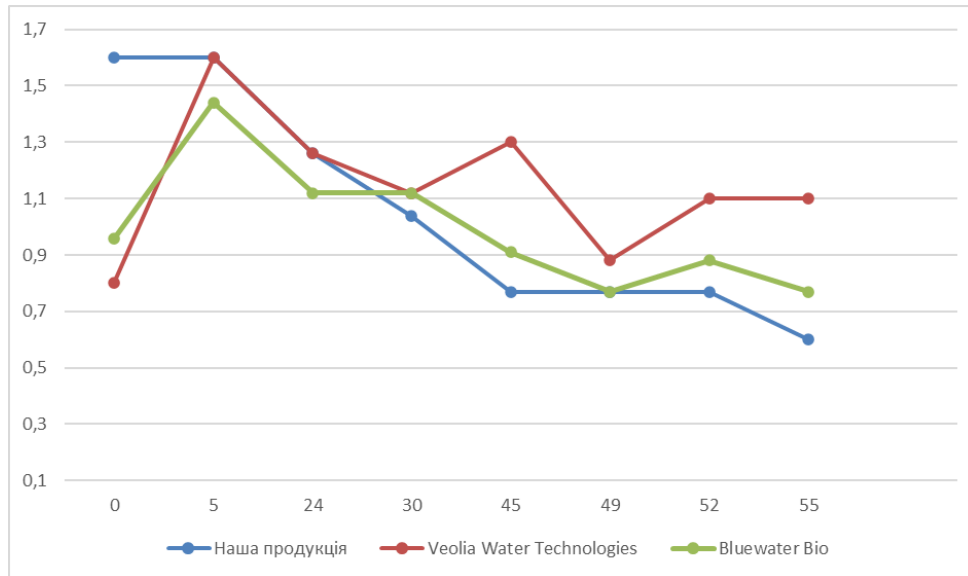


Рисунок 15. Графік порівняння конкурентних переваг з конкурентами

Аналіз графіка показує, що наш продукт має як переваги, так і недоліки у порівнянні з конкурентними рішеннями. Це підкреслює необхідність подальшого вдосконалення нашої технології, щоб збільшити конкурентоспроможність і підвищити ефективність очищення стічних вод від антибіотиків. У таблиці 4.3.3 наведено можливі шляхи розвитку проєкту.

Таблиця 4.3.3 – Варіанти розвитку ідеї стартапу

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
Повний вихід технології на ринок	Формування повноцінної команди для подальшого впровадження, вдосконалення та розширення проєкту.
Частковий вихід технології на ринок	Залучення мінімально необхідної команди, вдосконалення технології та пошук партнерів для підтримки і розвитку.
Поява технології з кращими показниками	Покращення технології для підвищення її ефективності та зниження витрат на реалізацію, а також активний пошук партнерів.

4.4 Визначення потенційних споживачів

Таблиця 4.4.1 – Попередня характеристика потенційного ринку проєкту

№ п/п	Показники стану ринку (найменування)	Характеристика
1	Загальний обсяг продажів	Середній
2	Динаміка ринку (якісна оцінка)	зростає
3	Наявність обмежень для входу (вказати характер обмежень)	Необхідна перевірка робочої документації
4	Специфічні вимоги до стандартизації та сертифікації	Стандарти якості води, сертифікація продукції та процесів, технічні стандарти для очисних споруд
5	Середня норма рентабельності в галузі (або по ринку), %	40-50%

Таблиця 4.4.2 – Попередня характеристика потенційного ринку проєкту

<i>Юридична особа</i>	
<i>Критерій</i>	<i>Значення</i>
1. Форма власності	Приватне, державне
2. КВЕД	Е
3. За потужністю	Малі, середні, великі
4. За масштабом виробництва	Одиничні, серійні
5. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільні, комбіновані
6. За ресурсами, що споживаються	Працемісткі
7. За чисельністю персоналу	Середні, великі
8. За сферою діяльності	Виробничі
9. За приналежністю капіталу і контролю	Національні
10. За географічним розташуванням	Україна
11. За віддаленістю органів управління	Національні
12. За характером господарської діяльності	Промислові
13. За рівнем технологічної цілісності	Провідні
14. За долею іноземного капіталу	-
15. За формуванням статутного капіталу	Унітарні
16. За організацією виробничих процесів	Безперервні
17. За роботою протягом року	Сезонні
18. За географічним розташуванням на території України	По всій території

4.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Припустимо що мінімальна витрата води на очисній станції 2500 м³/добу. Розраховано змінні витрати на одиницю товару, які становлять 3,3 грн:

1. Розрахунок ціни продукції витратним методом

$$Ц = C + \text{фіксований відсоток прибутку (грн/од)} \quad (4.5.1)$$

де Ц – прогнозована ціна товару, грн/од, С – розрахована очікувана собівартість товару, грн/од.

Очікувана собівартість продукту становить 8 грн/од, тоді прогнозована ціна товару:

$$Ц = 8 + 3,3 = 11,3, \text{ грн/од}$$

За встановленої ціни можна покрити всі виробничі витрати, проте отриманий прибуток буде настільки низьким, що не зможе повністю задовольнити фінансові очікування.

2. Метод ціноутворення, що базується на поточних цінах або конкурентній стратегії, визначає ціну продукту шляхом аналізу цінової політики конкурентів. Конкурент 1 встановив ціну 15 грн, конкурент 2 - 10 грн, а конкурент 3 - 35 грн, то:

$$Ц = (15 + 10 + 35)/3 = 20, \text{ грн/од} \quad (4.5.2)$$

Цю ціну можна вважати оптимальною, оскільки вона не лише покриває всі виробничі витрати, але й забезпечує високий прибуток для підприємства. З метою визначення верхньої межі собівартості розробки, важливо врахувати законодавчі вимоги України щодо ціноутворення.

Ціна товару без урахування роздрібною надбавки, що не перевищує 12% дорівнює:

$$Ц_{\text{відп.}} = 20 - (20 \cdot 0,12) = 17,6, \text{ грн} \quad (4.5.3)$$

Ціна виробника без врахування ПДВ (7%):

$$C_{\text{вир}} = 17,6 - (17,6 \cdot 0,07) = 17,37, \text{ грн} \quad (4.5.4)$$

Ціна, що встановлюється виробником, включає прибуток підприємства в обчисленні собівартості виробництва. Мінімальний рівень прибутку підприємства становить 5%. Таким чином, собівартість продукції складе:

$$C_{\text{од}} = 17,37 - (17,37 \cdot 0,05) = 16,5, \text{ грн} \quad (4.5.5)$$

Пропускна здатність очисної станції становить 912000 м³/рік.

Верхня межа собівартості становитиме:

$$C = 16,5 \cdot 912000 = 15048000, \text{ грн} \quad (4.5.6)$$

3. Метод безбитковості.

Таблиця 4.5.1 – Дані для обрахунку точки безбитковості

Об'єм стічної води, м ³	600000	700000	800000	900000	1000000
Сталі витрати, грн	8500000	8500000	8500000	8500000	8500000
Змінні витрати, грн	2815000	3284000	3753000	4223000	4892000
Загальні витрати, грн	11315000	11784000	12253000	12723000	13392000
Загальний прибуток, грн	8160000	9520000	10880000	12240000	13600000
Чистий прибуток, грн	-3155000	-2264000	-1373000	-483000	208000

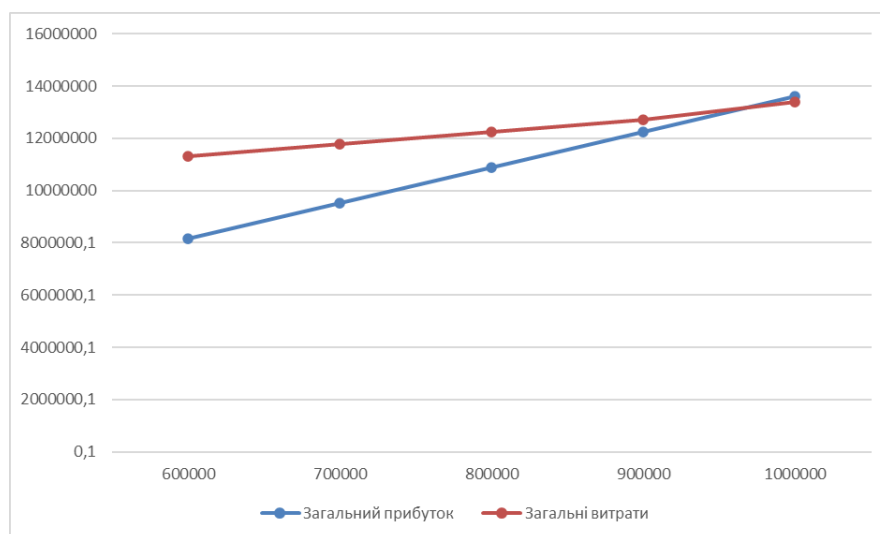


Рисунок 4.5.1 – Графік безбитковості

Проаналізувавши отриманий графік (рис. 4.5.1) мінімальний об'єм стічної води, яку необхідно очистити, щоб досягти точки беззбитковості (з ціною 13,6 грн/м³) становить близько 9500000 м³.

Таблиця 4.5.2 – Калькуляція собівартості стартап-продукту

№ п/п	Етап розробки	Кількісний показник	Вартісний показник
1	Етап розробки проєкту	15%	2257200
2	Етап ринкового дослідження	5%	752400
3	Етап закупівлі та впровадження	45%	6771600
4	Налагоджування системи	25%	3762000
5	Вихід на запланований обсяг виробництва	10%	1504800

Таблиця 4.5.3 – Забезпеченість проєкту основними засобами

Місце у техн. проц.	Назва ОЗ	Повна поч. вартість ОЗ	План. період експлуатації	Очікуваний постачальник	Джерело фінанс. придбання
1	2	3	4	5	6
Етап підготовчих та допоміжних робіт	Робочі споруди	2000000	50	VINCI Construction	Міжнародні грантові програми та організації (EU4Environment), Coca-Cola, Nestlé, Danone
	Аварійні споруди	500000	15	VINCI Construction	
	Установки для культивування рослин	100000	10	Netafim	
	Мішалка	200000	8	GreenEra	

Продовження таблиці 4.5.4

	Трубопровід	300000	10	ТТС-Комплект
	Насоси	200000	15	ТОВ "Броварський завод ком. обл."
	Лабораторне обладнання	250000	15	Labstar
Етап очищення стічних вод	Решітки	30000	8	Sanmix
	Фільтр	80000	8	Aqua-UA
	Відстійник	40000	10	Sanmix
	Система аерації	50000	10	Aqua-Filter
	Біоставок	100000	20	Ecosoft
Всього: 3850000			Амортизаційні відрахування: 179417	

Таблиця 4.5.5 – Забезпеченість проекту оборотними фондами

Група ОбФ	Назва	Норма витра т на рік	Ціна, грн/о д	Очікувани й постачаль ник	Джерело фінансуван ня
Сировина і матеріали	Ряска	-	-	Власна вирощена сировина	-
	Лабораторні матеріали	3000000	-	Ukrmedsnab	Міжнародні грантові програми та організації (EU4Environ ment), Coca- Cola, Nestlé, Danone
Паливо, електроенерг ія	Паливо	60000	53	АЗС	
	Електроен ергія	2150000	194,35	ДТЕК Київ електро-мере жі	
Запасні частини		800000	-	Виробники	

Таблиця 4.5.6 – Забезпеченість проєкту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком на посаді	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень заробітної плати, грн		
				За місяць на працівника	Всього за місяць	Всього за рік
Робочі основні	Інженер	4	Висока кваліфік.	25000	100000	1200000
Робочі допоміжні	Електрик	1	Висока кваліфік.	23000	23000	276000
	Сантехнік	2	Висока кваліфік.	26000	52000	624000
Спеціалісти	Інженер технолог	2	Висока кваліфік.	30000	60000	720000
	Технік технолог	1	Висока кваліфік.	30000	30000	360000
	Бухгалтер	2	Висока кваліфік.	25000	50000	600000
Мол. персонал обслуговування	Лаборант	2	Некваліфіковані	18000	36000	432000
	Комірник	1	Некваліфіковані	16000	16000	192000
Керівники	Директор	1	Висока кваліфік.	40000	40000	480000
	Головний інженер - технолог	1	Висока кваліфік.	35000	35000	420000
	Менеджер	1	Висока кваліфік.	32000	32000	384000
Всього:					5688000	
Єдиний соціальний внесок (22%):					1251360	
ФОП _{заг} :					6939360	

Використовується метод точки беззбитковості, щоб визначити мінімальний обсяг виробництва та порівняти його значення із запланованим річним обсягом виробництва:

$$Q_{б/бз} = FC / (P - AVC) \quad (4.5.7)$$

де $Q_{б/бз}$ – мінімальна кількість продукції, яку необхідно виготовити, щоб досягти точки беззбитковості, шт.; FC- постійні витрати підприємства, грн; P – ціна продукції, грн; AVC – питомі зміни витрат, грн/шт.

Визначимо питомі зміни витрат:

$$AVC = (VC) / Q \quad (4.5.8)$$

Змінні витрати включають сировину та матеріали, що використовуються в процесі виробництва. Вартість сировини і матеріалів для стартового проєкту становить 3 000 000 гривень, а річна продуктивність при 2500 м³ в день, становить 912 500 м³ в рік, і питома вартість становить:

$$AVC = 3000000 / 912000 = 3,29, \text{ грн/м}^3$$

Постійні витрати підприємства включають амортизацію і ФОП_{заг}. Загальна вартість становить 7118777 грн. Тоді $Q_{б/бз}$ з врахуванням обраної ціни (20 грн.) дорівнюватиме:

$$Q_{б/бз} = 7118777 / (20 - 3,29) = 1180851,5, \text{ м}^3$$

Розрахунок річної собівартості стартап-проєкту наведено в табл. 4.5.5

Таблиця 4.5.7 – Калькуляція річної собівартості виготовлення стартап-продукту

Калькуляція	Витрата на рік, грн	Витрата на одиницю продукції, м ³
Амортизаційні відрахування	179417	0,2
Оборотні засоби	5290000	5,8
ФОП _{заг}	6939360	7,6
Повна собівартість:	12408777	13,6

Таблиця 4.5.8 – Техніко-економічні показники проекту

Показники	Одиниця виміру	Умовне позначення, формула розрахунку
Річний обсяг реалізації ідеї, технології, методики	м ³ /рік	$B = 912000$
Середньорічна чисельність персоналу	Осіб	18
Капіталовкладення у проект: - всього - на одиницю продукції	Грн. Грн./м ³	$K = OF + OBK = 3850000 + 12229360 = 16079360$ На м ³ : 17,3
Повна собівартість: - всього - на одиницю продукції	Грн. Грн./м ³	$C = A + OBK = 12408777$ На м ³ : 13,6
Відносний прибуток	Грн./м ³	$P = Ц - C = 6,4$
Рентабельність	%	$P = (P/C) \times 100 = 47$
Період повернення капіталовкладень	Років	$T_{пов} = K/P = 2,75$
Фондовіддача виробничих фондів	Грн./грн.	$ФВ = (Ц \times B) / OF = 4,7$
Фондосмкість	Грн./грн.	$ФС = 1/ФВ = 0,2$
Коефіцієнт економічної ефективності		$E = P/K = 0,4$

4.6. Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту

Таблиця 4.6.1 – Карта бізнес-процесів виконання стартап-проекту

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат, грн
Розробка ідеї стартапу	Аналіз потреб споживачів	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси	4-7 місяців	2257200
	Вибір технології	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		

Продовження таблиці 4.6.1

	Аналіз можливої потужності виробництва на рік	людські та інформаційні ресурси		
	Вибір розташування та обладнання	людські та інформаційні ресурси		
	Розрахунок ціни	людські та інформаційні ресурси		
	Розрахунок техніко-економічних показників	людські та інформаційні ресурси		
	Аналіз ризиків виробництва	людські та інформаційні ресурси		
Реалізація ідеї	Пошук програм та інвесторів	людські та інформаційні ресурси	5 місяців	7524000
	Розробка сайту та реклами	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
	Підписання контрактів з виробниками та власниками території	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
	Закупівля обладнання	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
	Наймання персоналу	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
Впровадження у виробництво	Встановлення конструкцій та обладнання	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси	3 місяці	3762000

Продовження таблиці 4.6.1

	Проведення пробного запуску	людські та інформаційні ресурси		
	Перевірка обладнання та показників	людські		
Масова реалізація	Впровадження системи для залучення потенційних клієнтів	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси	7 місяців	1504800
	Вихід на нові ринки, співпраця з дистриб'юторами та роздрібними мережами.	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
	Збільшення виробничих потужностей	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
	Впровадження системи для збору відгуків і аналізу задоволеності клієнтів	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
	Пошук додаткового фінансування для підтримки росту	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		
	Регулярна оцінка результатів роботи співробітників і підтримка їх професійного розвитку	людські, фінансові, матеріальні та інформаційні ресурси		

Таблиця 4.6.2 – Системний аналіз бізнес-процесів стартапу

Функції	Елементи										
	Директор	Гол. Інженер-тех.	Менеджер	Інженер	Електрик	Сантехнік	Інженер-технолог	Технік технолог	Бухгалтер	Лаборант	Комірник
Аналіз ринку та конкурентів	+	+	+								
Оцінка та впровадження технології	+	+	+								
Навчання персоналу		+	+				+				
Вдосконалення наявних технологій і пошук нових		+					+	+			
Пошук інвесторів, благодійних програм та підписання контрактів	+	+	+								
Пошук постачальників матеріалів		+	+								
Аналіз конкурентоспроможності	+	+	+								
Розробка плану виробництва		+					+	+			
Проектування технологічних процесів		+		+			+	+			
Наймання персоналу	+	+	+								
Встановлення конструкцій та обладнання				+	+	+	+	+			
Перевірка обладнання та показників				+	+	+	+	+			
Збільшення виробничих потужностей		+	+				+	+			
Проведення технологічного процесу		+		+	+	+	+	+		+	
Управління фінансами	+		+								

Продовження таблиці 4.6.2

Регулярне обслуговування обладнання				+	+	+					
Робота зі складом та отриманням матеріалів, реагентів										+	+
Контроль якості процесу та продукту		+		+			+				
Продаж та маркетинг	+		+								

4.7 Ризики і страхування розробки

Розглядаються наступні види ризиків:

Виробничі ризики: Вони виникають, коли замовник неправильно використовує ресурси та обладнання. Причини включають в себе зниження очікуваного прибутку, збільшення витрат на матеріали та інше. Коефіцієнт впливу на прибуток становить 0,40-0,45.

Фінансові ризики: Ці ризики виникають, коли замовник не виконує фінансові зобов'язання. Причини можуть бути пов'язані з інфляцією, невиконанням платіжних операцій та ризиком неплатоспроможності клієнтів. Коефіцієнт впливу на прибуток становить 0,98-0,99.

Страхові ризики: Ці ризики включають в себе збитки, що виникають через погану страхову політику. Коефіцієнт впливу на прибуток становить 0,85-0,90.

Організаційні ризики: Це пов'язані з проблемами у постачанні матеріальних ресурсів та наявністю проблем на ринку збуту. Коефіцієнт впливу на прибуток становить 0,75-0,79.

Техніко-виробничі ризики: Це стосується завдання шкоди навколишньому середовищу та можливості виникнення аварій, поломок та нещасних випадків. Коефіцієнт впливу на прибуток становить 0,70-0,85.

Для зменшення цих ризиків запропоновані наступні заходи:

1. Систематичні маркетингові дослідження: Постійна перевірка потреб споживачів.

2. Залучення додаткового персоналу: Особливу увагу слід звернути на спеціалістів у виробництві, де ризики найбільші.
3. Кваліфікований персонал: Важливо вибирати співробітників із високим рівнем кваліфікації та перевіреними рекомендаціями.
4. Чітке визначення договірних умов: Враховуйте всі можливі аспекти стосовно сировини та поставок, зазначаючи відшкодування за порушення угоди та створюючи запас сировини.
5. Визначення цільової аудиторії: Чітко визначте свою мету та постійних клієнтів.
6. Прогноз і ідентифікація ризиків: Проведіть інвентаризацію і заздалегідь визначте можливі небезпеки.
7. Випробувальні дослідження: Проводьте випробування та дослідження продукції.
8. Страхування майна: Розгляд можливостей страхування майна.

Висновки до розділу 4

Проект стартапу має значний потенціал завдяки своїй здатності конкурувати на ринку та можливостям комерціалізації. Після детального аналізу всіх внутрішніх та зовнішніх факторів, які впливають на проєкт, виявлено кілька ключових переваг цієї технології: низька вартість інноваційності та екологічність методу.

Серед недоліків слід відзначити недостатню обізнаність населення щодо необхідності очищення забруднених стічних вод, відсутність прямого доходу від очисних станцій та нестабільність національної валюти. Основні ризики, що можуть виникнути під час реалізації стартапу, включають можливе недобросовісне ставлення з боку інвесторів, непередбачені суперечливі нюанси у договорах та проблеми з постачанням сировини. Для мінімізації цих ризиків слід використовувати страхування, укладати детально прописані договори та залучати кваліфікованих спеціалістів.

Розрахунки показали, що собівартість 1 м³ води, отриманої за допомогою цієї технології, становить 13,6 грн.

5. Охорона праці і техніка безпеки в надзвичайних ситуаціях

Експериментальна частина роботи була проведена у лабораторії компанії "Enamine", м. Київ. У процесі проведення досліджень використовувались різноманітні хімічні реактиви, посудини для хімічних реакцій та електричні прилади. Виконання експериментальної частини враховувало умови забезпечення безпеки праці, запобігання пожежам, екологічну безпеку та заходи безпеки в надзвичайних ситуаціях [38].

5.1. Охорона праці в лабораторії

Перед входженням до лабораторії необхідно пройти попередню підготовку. До початку експерименту слід ретельно ознайомитися з обладнанням, хімічними реактивами, приладами та технікою, а також дотримуватися правил техніки безпеки.

Приміщення лабораторії повинно бути просторим та освітленим, обладнаним необхідними приладами та обладнанням. Кожна лабораторія повинна мати ефективну вентиляцію та витяжну шафу для робіт з леткими або концентрованими речовинами, а також для нагрівання різних речовин. Для зберігання летких, шкідливих речовин і речовин із поганим запахом слід використовувати спеціальні витяжні шафи [39].

Окрім робочих столів, в лабораторії мають бути столи для письмових робіт, шафи та тумбочки для зберігання посуду та реактивів, а також приладові столи для установки різних приладів.

Під час роботи в лабораторії слід дотримуватися основних правил техніки безпеки.

Необхідно дотримуватися порядку, уникати шуму та забезпечувати чистоту. Заборонено приймати їжу, пити алкоголь та курити в лабораторії. Кожна особа повинна знати місцезнаходження індивідуальних засобів захисту, аптечки та засобів для гасіння пожежі.

Необхідно слідкувати за тим, щоб лабораторний посуд був завжди чистим, і в разі потреби мити його негайно після використання.

Загальні правила безпеки включають у себе використання індивідуального захисту, відповідальне поводження з реактивами та устаткуванням, відключення газу, води та електроенергії після завершення роботи [40].

5.2 Правила техніки безпеки при роботі з кислотами і лугами

Зберігання концентрованих кислот і лугів слід виконувати в витяжній шафі у міцному посуді, розташованому на піддоні.

Усі операції з кислотами і лугами повинні виконуватися в захисних окулярах.

Розведення кислот слід проводити в термостійкому посуді, причому кислоту додають до води невеликими порціями під час перемішування. Необхідно уникати додавання води до концентрованої кислоти, оскільки це може призвести до значного виділення теплоти; вода, будучи менш щільною, може закипяти на поверхні кислоти, що призводить до можливого викиду рідини з посудини [41].

Під час розчинення гідроксидів натрію і калію слід використовувати пінцет або шпатель для взяття шматочків лугу, уникаючи контакту рук. Розчинення цих речовин рекомендується проводити невеликими порціями.

5.3 Техніка безпеки при роботі з легкозаймистою рідиною

Проведення робіт з легкозаймистими рідинами повинно відбуватися на безпечній відстані від джерела вогню. Заборонено нагрівати летючі та легкозаймисті рідини, такі як ацетон, ефіри, спирти, петролейний ефір, бензин, бензол, сірковуглець, на відкритому полум'ї. Для нагрівання таких речовин допускається використовувати водяну баню або електричну плиту із закритою спіраллю, за умови використання водяного холодильника для колби.

Заборонено нагрівати горючі речовини у відкритих посудинах; це повинно здійснюватися у колбах зі зворотнім холодильником.

Для перегонки легкозаймистих речовин слід використовувати прилад із водяним холодильником або роторний випарник. Заборонено переганяти рідини повністю, оскільки це може призвести до вибуху або пожежі.

Прилади, у яких містяться легкозаймисті речовини, слід розбирати лише після вилучення всіх джерел полум'я (запалені газові пальники, спиртові лампи, електричні плити із відкритою спіраллю тощо) та повного охолодження колби [42, 43].

Заборонено виливати легкозаймисті речовини в каналізацію, відра або ящики для сміття, оскільки навіть випадковий сірник може викликати пожежу.

Легкозаймисті речовини повинні зберігатися в металевих шафах у кількостях, які не перевищують щоденних потреб.

5.4 Заходи безпеки при витокі газу та гасінні локальної пожежі та палаючого одягу

У випадку пожежі негайно відсуньте всі горючі матеріали від вогнища, вимкніть газову подачу, відключіть всі електричні прилади та забезпечте припинення доступу повітря в лабораторії.

Гасіть полум'я піском або використовуйте протипожежну ковдру. Зауважте, що використання води для гасіння може призвести до поширення вогнища. У випадку інтенсивної пожежі використовуйте вогнегасник.

Якщо одяг загориться на комусь, терміново накрийте палаючу тканину протипожежною ковдрою. Не бігайте при загорянні одягу, оскільки це може сприяти розповсюдженню вогню.

5.5 Надання першої медичної допомоги при опіках і отруєннях хімічними речовинами

При термічних опіках першого ступеня, які характеризуються почервонінням і припухлістю, необхідно обробити уражене місце спиртовим розчином таніну, 96% етиловим спиртом або розчином перманганату калію. Опіки другого і третього ступеня, що вказують на утворення пухирів і виразок,

вимагають лише знезаражувальних примочок з розчину перманганату калію, після чого слід звернутися до лікаря.

При опіках кислотами необхідно обширно промити уражену область проточною водою, а потім застосувати 3% розчин бікарбонату натрію, а після цього знову промити водою.

Опіки лугами вимагають промивання ураженого місця проточною водою, а після цього застосування розчину борної або оцтової кислоти.

При попаданні лугу або кислоти в очі слід промити їх проточною водою протягом 3-5 хвилин, а потім застосувати розчин борної кислоти (для лугу) або бікарбонату натрію (для кислоти), перед тим як звернутися до лікаря.

Опіки фенолом потребують обробки ураженої області 70% етиловим спиртом, а потім гліцерином до зникнення білих плям на шкірі.

Опіки бромом вимагають промивання 96% спиртом або розведеним розчином лугу, після чого слід застосувати мазь від опіків та звернутися до лікаря.

При попаданні на шкіру корозивних органічних речовин, які не розчиняються у воді, слід вимити їх великою кількістю відповідного розчинника. Після надання першої допомоги потерпілий повинен бути направлений в медпункт [44].

ВИСНОВКИ

1. В результаті аналізу літератури щодо проблеми очищення стічних вод від антибіотиків, визначено, що стічні води у своєму складі можуть містити концентрацію сульфаметоксазолу до 55 мг/дм³. Зазначено, що існуючі методи не завжди відповідають високим стандартам ефективності та екологічної стійкості.

2. На підставі аналізу та порівняння декількох потенційно ефективних видів: лемна, сальвінія та тифа, визначено, що ряска - це один з ключових видів рослин для біологічного очищення стічних вод.

3. Встановлено, що ряска проявляє високий рівень адаптованості до різних середовищ, включаючи стічні води з різним рівнем забруднення. Ця адаптованість робить ряску ефективним біологічним агентом для очищення стічних вод, де умови можуть варіювати. В якості біологічного методу видалення антибіотику було обрано використання біореакторів з ряскою.

4. Розроблено методику досліджень, що включає визначення концентрації антибіотика та підготовку біологічного матеріалу, представленого вищими водними рослинами *Lemna minor*. Також було надано повний перелік використаного обладнання та приладів на всіх етапах досліджень, описано вимоги до калібрувальних розчинів та методів їх підготовки. Було надано методику приготування модельного розчину з використанням солей NaHCO₃, NaCl та K₂SO₄ з різними концентраціями сульфаметоксазолу.

5. Для аналізу отриманих зразків було застосовано метод LC-MS (рідинно-хроматографія з мас-спектрометрією). Основні переваги включають високу чутливість, точність ідентифікації, можливість кількісного аналізу, та виявлення невідомих сполук у зразках.

6. Експериментальні дослідження, спрямовані на визначення ефективності очищення води від антибіотика сульфаметоксазолу, були проведені у лабораторії компанії «Enamine» в м. Київ, де враховувалися різноманітні параметри та умови експерименту. Проведені експерименти дозволили систематично вивчити ефективність очищення води від

антибіотика сульфаметоксазолу за участю ряски *Lemma minor* та визначити стабільність антибіотика у водному розчині без участі ряски.

7. Визначено ефективність очищення води від антибіотика, яка залежала від початкової концентрації антибіотика у розчині. При вихідній концентрації 0,5 мг/дм³ ряска вбирала приблизно 26% антибіотика протягом 80 годин. При інших початкових концентраціях антибіотика (0,25 мг/дм³ та 3 мг/дм³) ефективність очищення становила відповідно 20% і 18%.

При розрахунках з вибором оптимальних значень отримані такі результати:

Значення питомої біомаси ряски в біореакторі становить 50 г/дм³.

Питоме навантаження антибіотика на ряску складає 0,0044 мг/(г·доба).

Питома швидкість видалення антибіотика складає 0,0011 мг/(дм³·доба).

Отримані результати свідчать про потенційну ефективність ряски *Lemma minor* у зниженні концентрації антибіотика у водних середовищах, що є значущим внеском у розробку методів очищення стічних вод від цього виду забруднення.

8. Було визначено, що основні переваги цієї технології включають в себе низькі витрати, простоту у використанні та обслуговуванні, інноваційний підхід, відсутність прямих конкурентів та екологічну безпеку методу.

9. У даній роботі було розглянуто основні вимоги щодо охорони праці та безпеки в надзвичайних ситуаціях під час виконання експериментів у лабораторних умовах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol. Indic.* 2008;8:1–13. doi: 10.1016/j.ecolind.2007.06.002.
2. Moore P.R., Evenson A. Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J. Biol. Chem.* 1946;165:437–441.
3. Knapp C.W., Dolfing J., Ehlert P.A.I., Graham D.W. Evidence of Increasing Antibiotic Resistance Gene Abundances in Archived Soils since 1940. *Environ. Sci. Technol.* 2010;44:580–587. doi: 10.1021/es901221x.
4. Łukaszewicz P., Białk-Bielińska A., Dołzonek J., Kumirska J., Caban M., Stepnowski P. A new approach for the extraction of tetracyclines from soil matrices: Application of the microwave-extraction technique. *Anal. Bioanal. Chem.* 2018;410:1697–1707. doi: 10.1007/s00216-017-0815-7.
5. Tlili I., Caria G., Ouddane B., Ghorbel-Abid I., Ternane R., Trabelsi-Ayadi M., Net S. Simultaneous detection of antibiotics and other drug residues in the dissolved and particulate phases of water by an off-line SPE combined with on-line SPE-LC-MS/MS: Method development and application. *Sci. Total Environ.* 2016;563–564:424–433. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.101.
6. M.J., Díazcruz M.S., Barceló D. Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro River basin: Removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment. *Environ. Int.* 2011;37:462–473. doi: 10.1016/j.envint.2010.11.011.
7. Hou J., Pan B., Niu X.K., Chen J.Z., Xing B.S. Sulfamethoxazole sorption by sediment fractions in comparison to pyrene and bisphenol A. *Environ. Pollut.* 2010;158:2826–2832. doi: 10.1016/j.envpol.2010.06.023.
8. D., Floriano L., Ribeiro L.C., Bandeira N.M.G., Prestes O.D., Zanella R. Simultaneous Determination of Multiclass Pesticides and Antibiotics in Honey Samples Based on Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food Anal. Method.* 2016;9:1638–1653. doi: 10.1007/s12161-015-
9. Baran W., Adamek E., Ziemiańska J., Sobczak A. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *J. Hazard. Mater.* 2011;196:1–15. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.08.082.39-8.

10. Vajda A.M., Barber L.B., Gray J.L., Lopez E.M., Woodling J.D., Norris D.O. Reproductive disruption in fish downstream from an estrogenic wastewater effluent. *Environ. Sci. Technol.* 2008;42:3407–3414. doi: 10.1021/es0720661.
11. Campbell C.G., Borglin S.E., Green F.B., Grayson A., Wozel E., Stringfellow W.T. Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: A review. *Chemosphere.* 2006;65:1265–1280. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.08.003.
12. J. Chen, S. Xie, Overview of sulfonamide biodegradation and the relevant pathways and microorganisms, *Sci. Total Environ.* 640–641 (2018) 1465–1477, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.016>.
13. R.A. Brain, A.J. Ramirez, B.A. Fulton, C.K. Chambliss, B.W. Brooks, Herbicidal effects of sulfamethoxazole in *Lemna gibba*: using p-aminobenzoic acid as a biomarker of effect, *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 8965–8970, <https://doi.org/10.1021/es801611a>.
14. M. Radke, C. Lauwigi, G. Heinkele, T.E. Mürdter, M. Letzel, Fate of the antibiotic sulfamethoxazole and its two major human metabolites in a water sediment test, *Environ. Sci. Technol.* 43 (2009) 3135–3141, <https://doi.org/10.1021/es900300u>.
15. P.J.M. Reis, V. Homem, A. Alves, V.J.P. Vilar, C.M. Manaia, O.C. Nunes, Insights on sulfamethoxazole bio-transformation by environmental Proteobacteria isolates, *J. Hazard. Mater.* 358 (2018) 310–318, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.012>.
16. B. Xu, D. Mao, Y. Luo, L. Xu, Sulfamethoxazole biodegradation and biotransformation in the water–sediment system of a natural river, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 7069–7076, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.086>.
17. Shi, H.; Ni, J.; Zheng, T.; Wang, X.; Wu, C.; Wang, Q. Remediation of wastewater contaminated by antibiotics. A review. *Environ. Chem. Lett.* 2020, 18, 345–360.
18. Maldonado, I.; Terrazas, E.G.M.; Vilca, F.Z. Application of duckweed (*Lemna* sp.) and water fern (*Azolla* sp.) in the removal of pharmaceutical

- residues in water: State of art focus on antibiotics. *Sci. Total Environ.* 2022, 838, 156565.
19. Bianchi, E.; Biancalani, A.; Berardi, C.; Antal, A.; Fibbi, D.; Coppi, A.; Lastrucci, L.; Bussotti, N.; Colzi, I.; Renai, L.; et al. Improving the Efficiency of Wastewater Treatment Plants: Bio-Removal of Heavy-Metals and Pharmaceuticals by *Azolla filiculoides* and *Lemna minuta*. *Sci. Total Environ.* 2020, 746, 141219.
 20. Topal, M.; Öbek, E.; Şenel, G.U.; Topal, E.I.A. Removal of tetracycline antibiotic by *Lemna gibba* L. from aqueous solutions. *Water Environ. J.* 2020, 34, 37–44.
 21. Gomes, M.P.; Brito, J.C.M.; Rocha, D.C.; Navarro-Silva, M.A.; Juneau, P. Individual and combined effects of amoxicillin, enrofloxacin, and oxytetracycline on *Lemna minor* physiology. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020, 203, 111025.
 22. Shafrir M., Avisar D. Development method for extracting and analyzing antibiotic and hormone residues from treated wastewater sludge and composted biosolids. *Water Air Soil Pollut.* 2012;223:2571–2587. doi: 10.1007/s11270-011-1049-5.
 23. Amini H., Ahmadiani A. Rapid and simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed.* 2007;43:1146–1150. doi: 10.1016/j.jpba.2006.09.004.
 24. Barber L.B., Keefe S.H., Leblanc D.R., Bradley P.M., Chappelle F.H., Meyer M.T., Rubio F. Fate of Sulfamethoxazole, 4-Nonylphenol, and 17 β -Estradiol in Groundwater Contaminated by Wastewater Treatment Plant Effluent. *Environ. Sci. Technol.* 2009;43:4843–4850. doi: 10.1021/es803292v.
 25. F., Šegan S., Tešić Ž., Milojković-Opsenica D. Chromatographic methods in determination of the soil–water partition coefficient. *J. Liq. Chromatog.* 2016;39:249–256.
 26. Wiest L., Chonova T., Bergé A., Baudot R., Bessueille-Barbier F., Ayouni-Derouiche L., Vulliet E. Two-Year Survey of Specific Hospital Wastewater

- Treatment and Its Impact on Pharmaceutical Discharges. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2018;25:9207–9218. doi: 10.1007/s11356-017-9662-5.
27. Mestre A.S., Carvalho A.P. Photocatalytic Degradation of Pharmaceuticals Carbamazepine, Diclofenac, and Sulfamethoxazole by Semiconductor and Carbon Materials: A Review. *Molecules.* 2019;24:3702.
28. Taoufik N., Boumya W., Achak M., Sillanpää M., Barka N. Comparative Overview of Advanced Oxidation Processes and Biological Approaches for the Removal Pharmaceuticals. *J. Environ. Manag.* 2021;288:112404.
29. Al Qarni H., Collier P., O’Keeffe J., Akunna J. Investigating the Removal of Some Pharmaceutical Compounds in Hospital Wastewater Treatment Plants Operating in Saudi Arabia. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2016;23:13003–13014. doi: 10.1007/s11356-016-6389-7.
30. Garcia-Ivars J., Martella L., Massella M., Carbonell-Alcaina C., Alcaina-Miranda M.-I., Iborra-Clar M.-I. Nanofiltration as Tertiary Treatment Method for Removing Trace Pharmaceutically Active Compounds in Wastewater from Wastewater Treatment Plants. *Water Res.* 2017;125:360–373.
31. Liu J., Lu J., Tong Y., Li C. Occurrence and Elimination of Antibiotics in Three Sewage Treatment Plants with Different Treatment Technologies in Urumqi and Shihezi, Xinjiang. *Water Sci. Technol.* 2017;75:1474–1484. doi: 10.2166/wst.2017.013.
32. De Jesus Gaffney V., Cardoso V.V., Cardoso E., Teixeira A.P., Martins J., Benoliel M.J., Almeida C.M.M. Occurrence and Behaviour of Pharmaceutical Compounds in a Portuguese Wastewater Treatment Plant: Removal Efficiency through Conventional Treatment Processes. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2017;24:14717–14734. doi: 10.1007/s11356-017-9012-7.
33. Ngigi A.N., Magu M.M., Muendo B.M. Occurrence of Antibiotics Residues in Hospital Wastewater, Wastewater Treatment Plant, and in Surface Water in Nairobi County, Kenya. *Environ. Monit. Assess.* 2019;192:18. doi: 10.1007/s10661-019-7952-8.
34. Alonso R., Montesdeoca-Esponda S., Pacheco-Juárez J., Sosa-Ferrera Z., Santana-Rodríguez J.J. A Survey of the Presence of Pharmaceutical Residues in

- Wastewaters. Evaluation of Their Removal Using Conventional and Natural Treatment Procedures. *Molecules*. 2020;25:1639.
35. Іванілов О.С. Економіка підприємства / О.С. Іванілов. – К. : Центр учбової літератури, 2009. – 728 с.
36. Примак Т.О. Маркетинг / Т.О. Примак. – К. : МАУП, 2004. – 228 с.
37. Фатхутдінов Р.А. Управління конкурентоспроможністю організації / Р.А. Фатхутдінов, Г.В. Осовська. – К. : Кондор, 2009. – 470 с.
38. Метод, вказівки до викон. розділу «Охорона праці» в дипломних проєктах і роботах бакалаврів / Уклад.: Н.А. Праховнік, Ю.О. Полукаров, Л.О. Мітюк - К.: НТУУ «КПІ», 2017. – 31 с.
39. Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень – ДСН 3.3.6.042- 99 – [Чинний від 01.12.1999]. – Держспоживстандарт України, 1999.
40. Голінько В.І. Основи охорони праці: підручник / В.І. Голінько; М-во освіти і науки України; Нац. гірн. ун-т. – 2-ге вид. – Д.: НГУ, 2014. – 271 с.
41. М.М. Гіроль, М.В. Бернацький, В.Є. Хомко Охорона праці у водопровідно-каналізаційному господарстві. Навчальний посібник. /За ред. М.М. Гіроля / - Рівне: НУВГП, 2010 - 351 с. іл.
42. Шестопапов О. В. Біотехнологічний захист та охорона навколишнього середовища: Навчальний посібник / О. В. Шестопапов, І. В. Пітак, Т. Б. Новожилова та ін.– Х.: «Технологічний центр», 2016. – 218 с. Природне і штучне освітлення – ДБН В.2.5-28-2006 – [Чинний від 01.10.2006]. – Держспоживстандарт України, 2006.
43. Ткачук К.Н. Охорона праці. Підручник / К.Н. Ткачук, М.О. Халімовський та ін. – К.: Основа, 2003. – 472 с.