



А.О. Зулфігаров¹, М.С. Артамонов², О.С. Зулфігаров²
¹Національний технічний університет України «Київський політехнічний
інститут імені Ігоря Сікорського»
² НВК «Екофарм», м. Київ, Україна

ХІМІЯ ВИБУХОВИХ РЕЧОВИН: БІОРОЗКЛАДАННЯ НІТРОАРОМАТИЧНИХ СПЛУК

Резюме. Використання в Україні нітроароматичних сполук у різних сферах промисловості, їхнє накопичення у критичних обсягах в зоні воєнних дій і на прилеглих територіях потребують розробки сучасних методів їх знищення з метою мінімізації шкідливого впливу на здоров'я людини та середовище її життєдіяльності.

Мета. Аналіз сучасних біологічних методів утилізації вибухових речовин на прикладі біорозкладання нітроароматичних сполук.

Матеріали та методи. Результати наукових досліджень і дані відкритих джерел наукової інформації, що висвітлюють питання розробки біологічних методів утилізації вибухових речовин. Використано методи контент-аналізу, системного і порівняльного аналізу.

Результати дослідження. Узагальнено сучасні напрямки у сфері розробки методів біодеградації нітроароматичних сполук. Висвітлено, на прикладі тротилу, аеробний і анаеробний механізми розкладання нітроароматичних сполук бактеріями і біодеградації грибами. Розкриті особливості метаболізму нітроароматичних сполук за участі різних мікроорганізмів. Розглянуті сучасні методи біодеградації відходів боєприпасів, такі як: біоремедіація, фітोरемедіація, компостування та застосування біореакторів. Зроблено акцент на актуальність пошуку ферментів, що беруть участь у деградації нітроароматичних сполук, серед яких мають особливі біотехнологічні перспективи бактеріальні нітроредуктази, які є каталізаторами процесу послідовного перенесення електронних пар до нітрогруп ароматичних сполук з наступним утворенням нітросо-, гідроксиламіно- і амінопохідних.

Висновки. Наукові дослідження і сучасний воєнний досвід свідчать про те, що біоремедіація та фітोरемедіація є перспективними методами усунення негативного впливу на довкілля нітроароматичних сполук, токсичних промислових відходів і компонентів боєприпасів.

Ключові слова: вибухові речовини, боєприпаси, утилізація, біорозкладання.

A. Zulfigarov¹, M. Artamonov², O. Zulfigarov²

¹ National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute", Kyiv, Ukraine

² Ecopharm LLC, Kyiv, Ukraine

CHEMISTRY OF EXPLOSIVES: BIODEGRADATION OF NITRO-AROMATIC COMPOUNDS

Abstract. The use of nitroaromatic compounds in Ukraine in various spheres of industry and their accumulation in critical volumes in the war zone and in the adjacent territories require the development of modern methods of their destruction in order to minimize the harmful effects on human health and the environment.

Aim. Analysis of modern biological methods of disposal of explosives using the example of biodegradation of nitroaromatic compounds.

Materials and Methods. The results of scientific research and data from open sources of scientific information highlighting the issue of developing biological methods for the disposal of explosives. The methods of content analysis, system and comparative analysis were used.

Results. Summarized modern trends in the development of methods of biodegradation of nitroaromatic compounds. Using TNT as an example, the aerobic and anaerobic mechanisms of decomposition of nitroaromatic compounds by bacteria and biodegradation by fungi are highlighted. The peculiarities of the metabolism of nitroaromatic compounds with the participation of various microorganisms are revealed. Modern methods of biodegradation of ammunition waste are considered, such as: bioremediation, phytoremediation, composting and the use of bioreactors. Emphasis is placed on the relevance of the search for enzymes involved in the degradation of nitroaromatic compounds, among which bacterial nitroreductases have special biotechnological prospects, which are catalysts of the process of sequential transfer of electron pairs to the nitro groups of aromatic compounds with the subsequent formation of nitroso-, hydroxylamine-, and amine derivatives.

Conclusions. Scientific research and modern military experience show that bioremediation and phytoremediation are promising methods of eliminating the negative impact on the environment of nitroaromatic compounds, toxic industrial waste and ammunition components.

Keywords: explosives, ammunition, disposal, biodegradation.

Вступ. У кінці дев'ятнадцятого століття були синтезовані нітроароматичні вибухові речовини, такі як 2,4,6-тринітротолуол (тротил), який до кінці минулого століття був вибуховою речовиною, яку найчастіше використовували на підприємствах з виробництва боєприпасів. Сьогодні нітроз'єднання такі як нітробензол, 2- і 4-нітротолуол, 3-нітротолуол, 4-нітрофенол, 3-нітрофенол і пара-нітроанілін є чинниками антропогенного забруднення, з причини їх активного використання у синтезі пестицидів і гербіцидів, виробництві барвників, пластику, фарб і фармацевтичних препаратів та, що особливо важливо для нинішньої ситуації в Україні, вони є продуктами використання вибухових речовин внаслідок активного ведення бойових дій. Будучи хімічно стійкими і високотоксичними сполуками, вони мають потужний мутагенний і канцерогенний потенціал [1, 2].

Історичний розріз різноманітних методів утилізації продуктів використання вибухових речовин вказує на велику різноманітність методів боротьби із забрудненням, зокрема з очищенням ґрунтів. Вони включали, наприклад, скидання забруднених шарів ґрунту у море, складання на спеціальних полігонах та метод спалювання, який сьогодні є найпоширенішим методом рекультивації ґрунтів. Проте цей метод дорогий через витрати, пов'язані з розкопками ґрунту, його транспортуванням та величезними енергетичними затратами. Альтернативним підходом у світовому досвіді є застосування біологічних методів відновлення ґрунту, забрудненого залишками боєприпасів [3, 4].

За результатами пілотних досліджень, проведених у США (Bioremediation of Explosives Contaminated Soils: A Status Review, 1995 р.), було встановлено, що біоремедіація ґрунтів (компостування), забруднених вибуховими речовинами, дозволила досягти рівнів їх очищення від 30 до 33 частин на мільйон (ppm) для 2,4,6-тринітротолуолу та від 9 до 30 частин на мільйон для гексагідро-1,3,5-тринітро-1,3,5-тріазину після 40 днів обробки, з ефективністю знищення та видалення більше 99,0%. Витрати на переробку становили від 206 до 766 доларів США за тону ґрунту для кількості від 1200 до 30 000 тонн, що було на 40–50% менше, ніж спалювання на місці [5].

Сучасні технології біоремедіації є найбільш дешевими, ефективними і безпечними, в основі яких лежить використання метаболічного потенціалу мікроорганізмів. Біоремедіація являє собою процес відновлення, в якому бактерії, дріжджі та нитчасті гриби, застосовуються для біорозкладання небезпечних речовин на менш токсичні або нетоксичні сполуки. Для здійснення процесу біоремедіації мікроорганізми виділяють з природної мікрофлори, присутньої в забрудненому навколишньому середовищі або отримують методами генної інженерії [6-8].

На практиці для біорозкладання використовуються спеціалізовані набори (консорціуми мікроорганізмів), що демонструють визначену здатність до роз-

Introduction. At the end of the nineteenth century, nitroaromatic explosives were synthesized, such as 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), which until the end of the last century was the most commonly used explosive in munitions factories. Today, nitro compounds such as nitrobenzene, 2- and 4-nitrotoluene, 3-nitrotoluene, 4-nitrophenol, 3-nitrophenol and para-nitroaniline are factors of anthropogenic pollution, due to their active use in the synthesis of pesticides and herbicides, production of dyes, plastics, paints and pharmaceuticals, and what is especially important for the current situation in Ukraine, they are products of the military use of explosives. Being chemically stable and highly toxic compounds, they have a strong mutagenic and carcinogenic potential [1, 2].

A historical overview of the various methods of disposal of products of the use of explosives indicates a great variety of methods of combating pollution, in particular with soil cleaning. They are, for example, dumping of contaminated layers into the sea, disposal in special landfills and the incineration method, which today is the most common method of soil reclamation. However, this method is expensive due to the costs associated with soil excavation, its transportation, and huge energy costs. An alternative approach in world experience is the use of biological methods of soil restoration contaminated with ammunition residues [3, 4].

According to the results of pilot studies conducted in the USA (Bioremediation of Explosives Contaminated Soils: A Status Review, 1995), it was established that bioremediation (composting) of soils contaminated with explosives allowed to achieve levels of their purification from 30 to 33 parts per million (ppm) for 2,4,6-trinitrotoluene and 9 to 30 parts per million for hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine after 40 days of treatment, with destruction and removal efficiencies greater than 99, 0% Processing costs ranged from \$206 to \$766 per ton of soil for quantities ranging from 1,200 to 30,000 tons, which was 40–50% less than in-situ incineration [5].

Modern bioremediation technologies are the cheapest, most effective and safe, based on the use of the metabolic potential of microorganisms. Bioremediation is a remediation process in which bacteria, yeasts and filamentous fungi are used to biodegrade hazardous substances into less toxic or non-toxic compounds. To carry out the bioremediation process, microorganisms are isolated from the natural microflora present in the polluted environment or obtained by genetic engineering methods [6-8].

In practice, specialized sets (consortia of microorganisms) are used for biodegradation, which demonstrate a certain ability to decompose a certain group of hydrocarbons. Such consortia should have a high

кладу певної групи вуглеводнів. Такі консорціуми повинні мати високу здатність до детоксикації, спроможність швидко адаптуватися до забрудненого навколишнього середовища, взаємодіяти з місцевою мікрофлорою та не накопичувати токсичні проміжні сполуки розпаду вибухових речовин [9-11].

Використання в Україні нітроароматичних сполук у різних сферах промисловості та, що особливо актуально в теперішній військовий час, накопичення їх у критичних обсягах в зоні воєнних дій і на прилеглих територіях, потребують використання сучасних методів з їх утилізації з метою мінімізації шкідливого впливу на здоров'я людини та середовище її життєдіяльності.

Мета. Аналіз сучасних підходів до застосування біологічних методів утилізації вибухових речовин на прикладі біорозкладання нітроароматичних сполук.

Матеріали і методи. Результати наукових досліджень і дані відкритих джерел наукової інформації, що висвітлюють питання розробки біологічних методів утилізації вибухових речовин. Використані методи контент-аналізу, системного і порівняльного аналізу.

Результати дослідження та обговорення. Для того щоб підготувати ароматичне кільце до розщеплення, бактерії використовують у присутності повітря клас ферментів – оксигеназ [12], які мають властивість каталізувати включення молекулярного кисню в ароматичну систему молекули. Додавання нітрогрупи до ароматичного кільця сильно перешкоджає електрофільній атаці оксигеназ через електрон акцепторну нітрогрупу, що притягує електрони. Незважаючи на це, було описано декілька видів бактерій, які здатні ініціювати розщеплення нітроароматичних сполук таким ферментом [13].

На першому етапі одна нітрогрупа видаляється ферментом і вивільняється у середовище як нітрит. Різні організми розробили різні стратегії для розкладання однієї й тієї ж сполуки. Було показано, що діоксигенази ароматичного кільця ініціюють деградацію цілого ряду нітроароматичних сполук. Однак збільшення числа нітрогруп в ароматичному кільці – знижує ймовірність реакції, що каталізується оксигеназою.

Всі бактерії відновлюють нітрогруп до аміногруп за допомогою нітросо- і гідроксиламінічних функцій. Аміноароматична сполука не піддається подальшому розкладанню мікроорганізмом, який здійснює відновлення. Природні органічні сполуки легко піддаються біологічному розкладу і можуть бути джерелом вуглецю (азоту) та енергії для мікроорганізмів. Навпаки, ксенобіотичні сполуки, синтезовані та випущені в біосферу людиною, становлять серйозну проблему для гетеротрофних мікроорганізмів.

Перш ніж біорозклад зможе забезпечити ефективну стратегію очищення нітроароматичних сполук, для цього необхідно подолати кілька бар'єрів: 1 – токсичність нітроароматичних сполук для мікроорганізмів; 2 – низька біодоступність через нероз-

capacity for detoxification, the ability to quickly adapt to a polluted environment, interact with local microflora and not accumulate toxic intermediate compounds of the decomposition of explosives [9-11].

The use of nitroaromatic compounds in Ukraine in various spheres of industry and, which is especially relevant in the current wartime, their accumulation in critical volumes in the war zone and in the adjacent territories, require the use of modern methods for their disposal in order to minimize the harmful effects on human health and the environment of its life activity.

Aim. Analysis of modern biological methods of disposal of explosives using the example of biodegradation of nitroaromatic compounds.

Materials and Methods. The results of scientific research and data from open sources of scientific information highlighting the issue of developing biological methods of disposal of explosives were summarized. The methods of content analysis, system and comparative analysis were used.

Results and Discussion. In order to prepare an aromatic ring for splitting, in the presence of air, bacteria use a class of enzymes - oxygenases [12], which have the property of catalyzing the inclusion of molecular oxygen in the aromatic system of the molecule. The addition of a nitro group to an aromatic ring strongly hinders the electrophilic attack of oxygenases due to the electron-withdrawing nitro group. Despite this, several species of bacteria capable of initiating the cleavage of nitroaromatic compounds by such an enzyme have been described [13].

At the first stage, one nitro group is removed by an enzyme and released into the environment as nitrite. Different organisms have developed different strategies to break down the same compound. It was shown that aromatic ring dioxygenases initiate the degradation of a number of nitroaromatic compounds. However, an increase in the number of nitro groups in the aromatic ring reduces the probability of an oxygenase-catalyzed reaction.

All bacteria reduce nitro groups to amino groups with the help of nitroso- and hydroxylamine functions. The aminoaromatic compound is not subjected to further decomposition by the microorganism that carries out the reduction. Natural organic compounds are easily biodegradable and can be a source of carbon (nitrogen) and energy for microorganisms. On the contrary, xenobiotic compounds synthesized and released into the biosphere by humans pose a serious problem for heterotrophic microorganisms.

Before biodegradation can provide an effective strategy for cleaning nitroaromatic compounds, it is necessary to overcome several barriers: 1 – toxicity of nitroaromatic compounds for microorganisms; 2 – low bioavailability due to insolubility or sorption of the pol-

чинність чи сорбцію забруднювача; 3 – ускладнення, спричинені сумішами нітроароматичних забруднювачів; 4 – відсутність катаболічних систем, здатних розкласти нітроароматичні сполуки в мікробному співтоваристві.

Легкість відновлення ароматичної нітрогрупи залежить від природи інших замісників у кільці та відновлювального потенціалу навколишнього середовища. У разі нітротолуолів ймовірність відновлення збільшується, а ймовірність електрофільної атаки зменшується зі збільшенням числа нітрогруп. Тому, відновлення однієї нітрогрупи 2,4,6-тринітротолуолу (ТНТ) відбувається дуже швидко в різних умовах, у тому числі переважають при вирощуванні культур аеробних бактерій. Навпаки, відновлення 2-аміно-4,6-динітротолуолу (АДНТ) вимагає більш низького окислювально-відновного потенціалу, а відновлення 2,4-діаміно-6-нітротолуолу (ДАНТ) вимагає окислювально-відновного потенціалу нижче – 200 мВ [14].

Аеробний метаболізм ТНТ бактеріями. На рис. 1 представлені найвідоміші механізми аеробного метаболізму ТНТ бактеріями. Оксигенолітичний метаболізм нітрогруп нітроароматичних сполук обмежений мононітроароматичними та динітроароматичними сполуками [15].

Оксигенолітичний метаболізм ароматичних сполук бактеріями не відбувається в ТНТ через його хімічні властивості. Навіть у присутності кисню ТНТ має трансформуватися шляхом відновлювального метаболізму. У більшості описаних на цей час випадків аеробні бактерії схильні трансформувати молекулу ТНТ шляхом відновлення однієї або двох нітрогруп до гідроксиламіно- або аміногруп і продукувати різні ізомери амінінітроароматичних сполук, які, у свою чергу, зазвичай накопичуються в культурному середовищі без метаболізму. При цьому частково відновлені форми ТНТ реагують одна з одною в присутності кисню з утворенням деяких азокситетранітротолуолів [16], що спричиняє більш високу швидкість мутацій, ніж ТНТ. Ці реакції трансформації видаляють ТНТ, але дають дуже стійкі продукти, які не метаболізуються більшістю продукуючих їх мікроорганізмів [17]. Повідомлялося про кілька аероб, які здатні використовувати ТНТ як джерело азоту або вуглецю і ще рідше описувалася мінералізація цієї сполуки. Усунення нітрогрупи необхідно, щоб зменшити електрофільну природу молекули і дозволити діоксиназам використовувати ді- або мононітроароматичні сполуки як відповідні субстрати. Цей факт привів дослідників до виділення мікроорганізмів, здатних використовувати тротил як єдине джерело азоту в мінеральному середовищі з додатковими джерелами вуглецю [18].

Авторами [16] показано, що елімінація ТНТ штамом *Pseudomonas* відбувається через комплекс Мейзенгеймера. Видалення азоту з кільця ТНТ через ароматичні сполуки гідроксиламіну або через утворення комплексу Мейзенгеймера пояснює

lutant; 3 – complications caused by mixtures of nitroaromatic pollutants; 4 – the absence of catabolic systems capable of decomposing nitroaromatic compounds in the microbial community.

The ease of reduction of the aromatic nitro group depends on the nature of the other substituents in the ring and the reducing potential of the environment. In the case of nitrotoluenes, the probability of reduction increases and the probability of electrophilic attack decreases as the number of nitro groups increases. Therefore, the recovery of one nitro group of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) occurs very quickly under various conditions, including those prevailing when growing cultures of aerobic bacteria. On the contrary, the reduction of 2-amino-4,6-dinitrotoluene (ADNT) requires a lower redox potential, and the reduction of 2,4-diamino-6-nitrotoluene (DANT) requires a redox potential lower than 200 mV [14].

Aerobic metabolism of TNT by bacteria. In fig. 1 presents the most well-known mechanisms of aerobic metabolism of TNT by bacteria. Oxygenolytic metabolism of nitrogroupnitroaromatic compounds is limited to mononitroaromatic and dinitroaromatic compounds [15].

Oxygenolytic metabolism of aromatic compounds by bacteria does not occur in TNT due to its chemical properties. Even in the presence of oxygen, TNT must be transformed by reductive metabolism. In most of the cases described so far, aerobic bacteria tend to transform the TNT molecule by reducing one or two nitro groups to hydroxylamino or amino groups and produce various isomers of aminonitroaromatic compounds, which, in turn, usually accumulate in the culture medium without metabolism. At the same time, partially reduced forms of TNT react with each other in the presence of oxygen with the formation of some azoxytetranitrotoluenes [16], which causes a higher mutation rate than TNT. These transformation reactions remove TNT, but give very stable products that are not metabolized by most of the microorganisms that produce them [17]. A few aerobes have been reported to be able to use TNT as a source of nitrogen or carbon, and mineralization of this compound has even less often been described. Removal of the nitro group is necessary to reduce the electrophilic nature of the molecule and allow dioxygenases to use di- or mononitroaromatic compounds as suitable substrates. This fact led researchers to isolate microorganisms capable of using TNT as the only source of nitrogen in a mineral environment with additional carbon sources [18].

The authors [16] showed that the elimination of TNT by the *Pseudomonas* strain occurs through the Meisenheimer complex. The removal of nitrogen from the TNT ring through the aromatic compounds of hydroxylamine or through the formation of the

аеробний механізм деградації ТНТ бактеріями. Неспецифічне відновлення ТНТ до аміноподібних, які накопичуються, є поширеною реакцією серед аеробних бактерій (рис. 1).

Анаеробні процеси мають потенційні переваги швидкого відновлення при низькому окислювально-

Meisenheimer complex explains the aerobic mechanism of TNT degradation by bacteria. Nonspecific reduction of TNT to amino derivatives that accumulate is a common reaction among aerobic bacteria (Fig. 1).

Anaerobic processes have the potential advantages of rapid recovery at low redox potential, which mini-

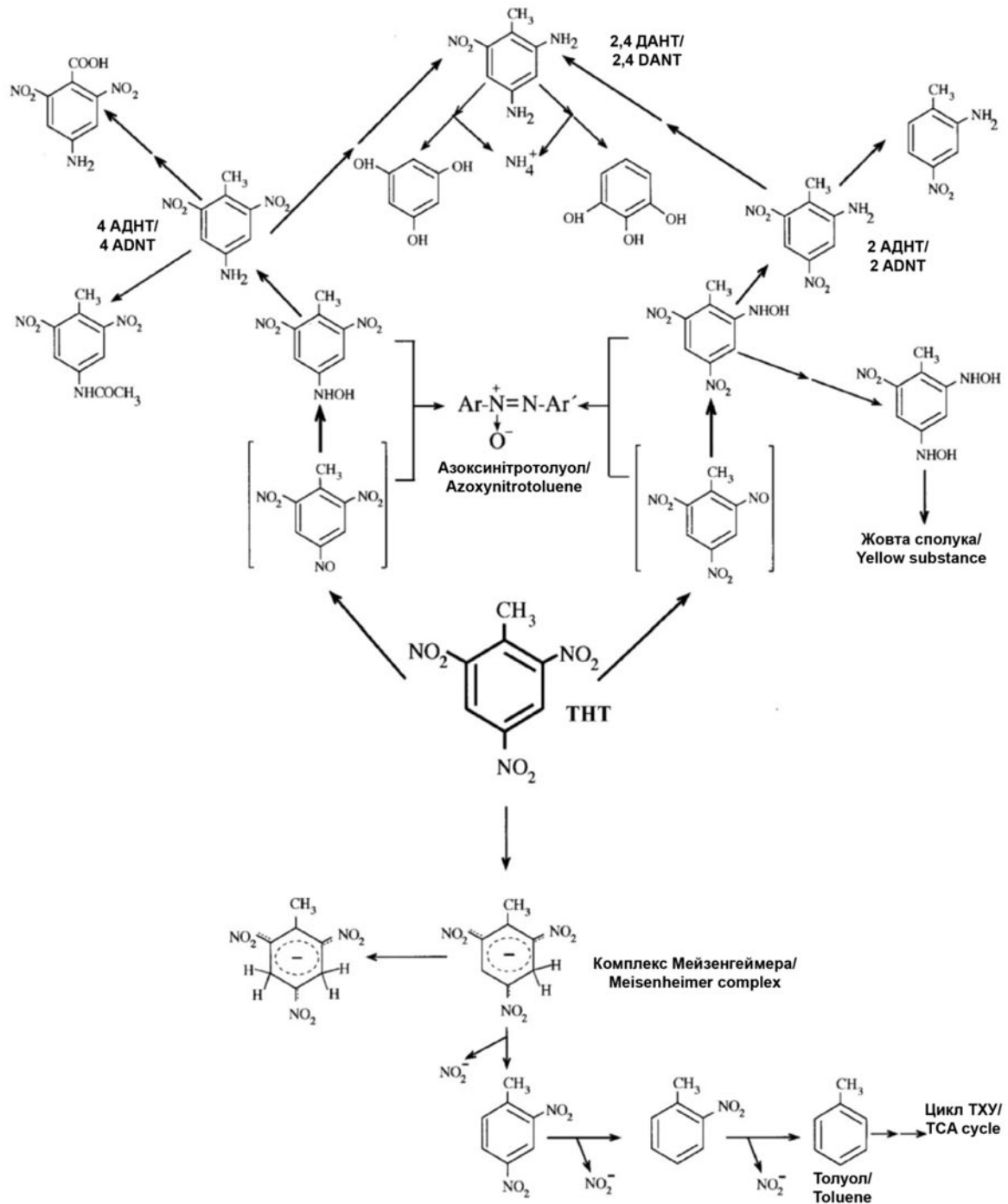


Рис. 1. Шляхи аеробного метаболізму ТНТ в аеробних мікроорганізмах. Перетворення однієї сполуки на іншу відбувається через ряд проміжних сполук – етапи вказані двома стрілками. ТХУ – трихлороцтова кислота.

Fig. 1. Ways of aerobic metabolism of TNT in aerobic microorganisms. The transformation of one compound into another takes place through a number of intermediate compounds, the stages are indicated by two arrows. TCA - Trichloroacetic Acid.

Таблиця 1 / Table 1

**Мікроорганізми, які розкладають чи трансформують ТНТ за відсутності кисню
(аноксичний механізм) / Microorganisms that decompose or transform TNT in the absence
of oxygen (anoxic mechanism)**

Мікроорганізми / Microorganisms	Метаболічні перетворення / Metabolic transformations
Clostridium acetobutylicum	Відновлює ТНТ до ТАТ /Restores TNT to TAT
Clostridium bifermentans strain CYS-1	Розкладає ТНТ до алифатичних полярних сполук через 4-АДНТ та 2,4-ДАНТ /Decomposes TNT to aliphatic polar compounds through 4-ADNT and 2,4-DANT
Clostridium bifermentans strain LJP-1	Перетворює ТНТ на ТАТ та фенольні сполуки /Converts TNT into TAT and phenolic compounds
Clostridium pasterianum	Відновлює ТНТ до ТАТ /Restores TNT to TAT
Clostridium sordellii	Відновлює ТНТ до ТАТ /Restores TNT to TAT
Clostridium sp.	Перегрупування Бамбергера для переробки дигідроксиламінодинітротолуолу /Bamberger rearrangement for the conversion of dihydroxylaminodinitrotoluene
Desulfovibrio sp. штам/strain B	Тротил як джерело азоту, толуол як передбачуваний проміжний продукт /TNT as a source of nitrogen, toluene as a putative intermediate
Desulfovibrio sp.	Перетворює ТНТ на ТАТ і ДАНТ; 42 % радіоактивності [¹⁴ C] ТНТ зв'язується з клітинною біомасою / Converts TNT to TAT and DANT; 42% of the radioactivity of [¹⁴ C] TNT binds to cellular biomass
Escherichia coli	Відновлює ТНТ до ТАТ /Restores TNT to TAT
Lactobacil lussp.	Відновлює ТНТ до ТАТ /Restores TNT to TAT
Methanococcus sp. штам/strain B	Поновлює ТНТ до ДАНТ /Restores TNT to DANT
Pseudomonas sp. штам/strain JLR11	ТНТ як джерело азоту; ТНТ як кінцевий акцептор електронів /TNT as a source of nitrogen; TNT as the final electron acceptor
Veillonella alkalescens	Відновлює ТНТ до ТАТ / Restores TNT to TAT

Примітка / Note: TAT - 2,4,6-triaminotoluene

відновному потенціалі, що зводить до мінімуму окислювальну полімеризацію субстратів через відсутність кисню. Мікроорганізми, які розкладають або трансформують ТНТ без кисню, перераховані у табл. 1 [19, 20].

Для значного розкладання тротилу в анаеробних умовах необхідне додавання косубстрату, що забезпечує відновну здатність відновлення нітрогрупи [20]. При цьому, виявлений п-крезол є продуктом метаболізму не ТНТ, а ароматичних амінокислот типу триптофан. Бупаті і Кулпа [21] виділили штам, який використовував ТНТ як єдине джерело азоту та накопичував толуол у культурному середовищі (рис. 2).

mizes oxidative polymerization of substrates due to the absence of oxygen. Microorganisms that decompose or transform TNT without oxygen are listed in table. 1 [19, 20].

For a significant decomposition of TNT under anaerobic conditions, the addition of a cosubstrate is necessary, which provides the reductive ability of nitro group reduction [20]. At the same time, the identified p-cresol is a product of metabolism not of TNT, but of aromatic amino acids such as tryptophan. Bupati and Kulpa [21] isolated a strain that used TNT as the only source of nitrogen and accumulated toluene in the culture medium (Fig. 2).

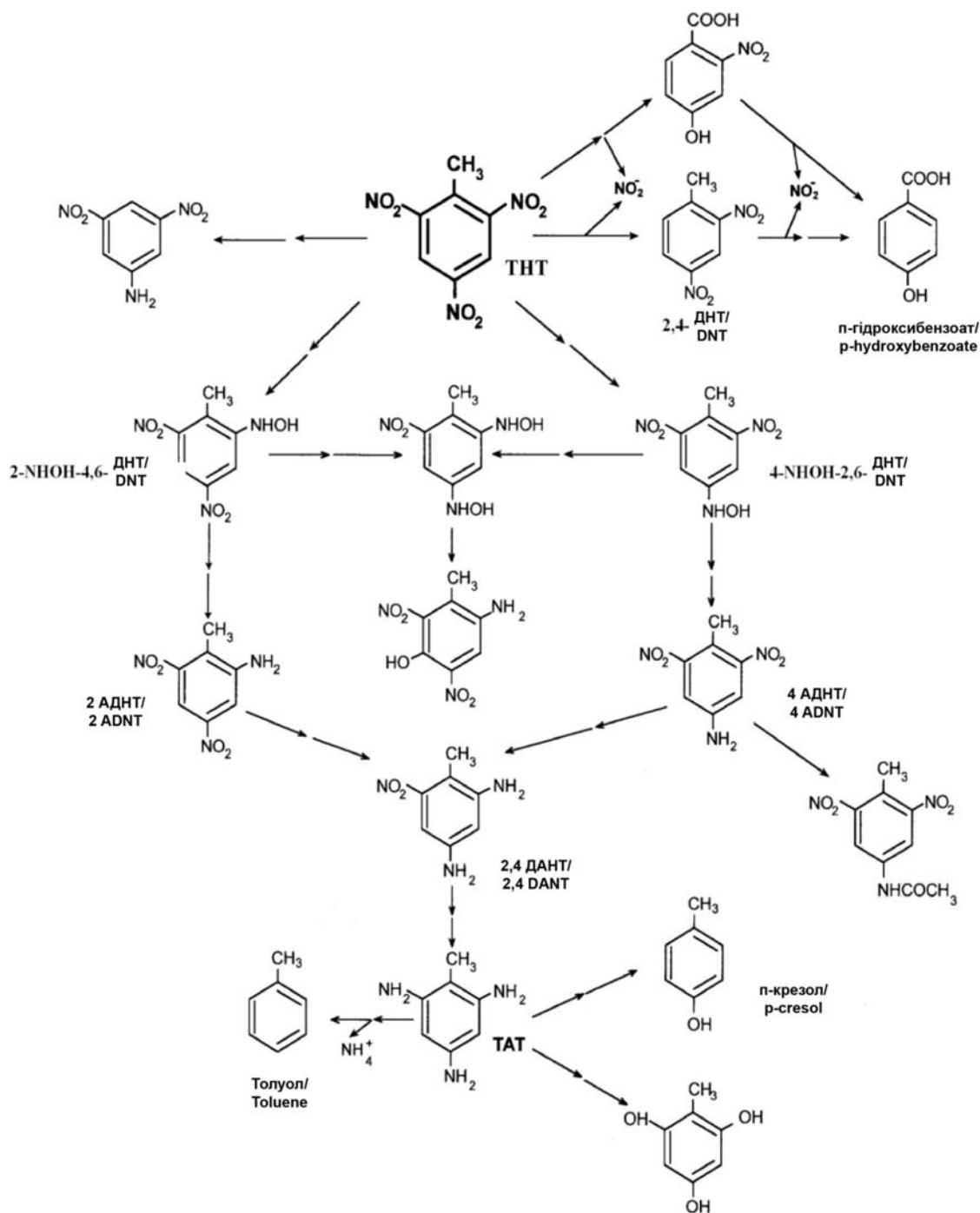


Рис. 2. Передбачувані механізми анаеробного метаболізму ТНТ у бактерій. Коли вважається, що перетворення однієї сполуки на іншу відбувається через ряд проміжних сполук – етапи вказані двома стрілками.

Fig. 2. Predicted mechanisms of anaerobic metabolism of TNT in bacteria. When it is believed that the transformation of one compound into another takes place through a series of intermediate compounds, the stages are indicated by two arrows.

Автори припустили, що нітрогрупа відновлюється до відповідних амінів з утворенням триамінотолуолу (ТАТ), які потім зазнають відновного відщеплення аміногруп за механізмом, аналогічним описаним Шнеллем і Шинком [22] для аніліну.

The authors assumed that the nitro group is reduced to the corresponding amines with the formation of TAT, which then undergo reductive cleavage of amino groups by a mechanism similar to that described by Schnell and Shink [22] for aniline.

Ферменти, здатні відновлювати нітрогрупи нітроароматичних сполук, називаються нітроредуктазами. Вони кваліфікуються щодо їхньої відносної чутливості до кисню. Нечутливі до кисню, або нітроредуктази I типу, використовують двоелектронний механізм відновлення та здатні відновлювати нітрогрупи в аеробних умовах. І навпаки, чутливі до кисню або нітроредуктази типу II відновлюють нітрогрупи в одноелектронному процесі, утворюючи нітроаніон-радикал. Тобто. нітроредуктази типу II здатні до чистого відновлення нітрогруп тільки в анаеробних умовах.

Нітроароматичні нітроредуктази I типу були описані в багатьох бактерій, особливо ентеробактерій.

На відміну від нітроароматичних нітроредуктаз, є менше інформації про ферментативне відновлення нітрогруп нітрамінів. Дослідження біорозкладання нітроамінових вибухових речовин – гексогену та октогену показали нітровідновлення нітрамінів, що протікає лише в анаеробних умовах з утворенням стабільних нітросо-проміжних сполук, що очевидно, обумовлено тим, що нітропродукти I не беруть участь у біологічному нітровостванові. Нітроредуктази можуть відновлювати широкий спектр нітроароматичних та нітрогетероциклічних сполук [23].

Авторами [24] при дослідженні бактерій *Pseudomonas* sp. був виділений штам CISI, який здатний зростати на 2,4,6-тринітротолуолі.

Використовуючи методи високоефективної рідинної хроматографії, газову хроматографію з мас-спектрометричним детектуванням та ЯМР виділено та ідентифіковано сполуки після біологічного відновлення *Pseudomonas* sp.: 2-аміно-4,6-динітротолуол; 4-аміно-2,6-динітротолуол; 4,6-динітро-2-гідроксиламінітолуол; 2,6-динітро-4-гідроксиламінітолуол; 2,2',6,6'-тетранітро-4,4'-азокситолуол; 4,4',6,6'-тетранітро-2,2'-азокситолуол і 2',4,6,6'-тетранітро-2,4'-азокситолуол. Усі виділені сполуки охарактеризовані спектрофотометрично.

Проведені дослідження показали, що бактерія *Pseudomonas* sp. крім видалення нітрогруп може відновлювати динітротолуол до амінопохідних, які не використовуються як джерело азоту. Повна мінералізація TNT та DNT до CO₂; NO₂ та H₂O є неодмінною умовою біорегенерації забруднених ділянок. Біологічне відновлення TNT та DNT до стійких амінопохідних та виробництво більш стійких азокситолуолів є серйозною перешкодою для цього процесу.

Біодеградація TNT грибами. Використання грибів для біоремедіації TNT викликало значний інтерес останнім часом. Гриб білої гнилі *Phanerochaete Chrysosporium* виробляє складну систему позаклітинних пероксидаз, невеликих органічних молекул та перекису водню для розкладання лігніну. Лігнінолітична система неспецифічна і може біорозкласти широкий спектр синтетичних хімічних речовин, включаючи нітроароматичні.

Enzymes capable of reducing nitro groups of nitroaromatic compounds are called nitroreductases. They are qualified by their relative sensitivity to oxygen. Oxygen-insensitive, or type I, nitroreductases use a two-electron reduction mechanism and are able to reduce nitro groups under aerobic conditions. Conversely, oxygen-sensitive or type II nitroreductases reduce nitro groups in a one-electron process, forming a nitro anion radical. That is, type II nitroreductases are capable of net reduction of nitro groups only under anaerobic conditions.

Type I nitroaromatic nitroreductases have been described in many bacteria, especially enterobacteria. In contrast to nitroaromatic nitroreductases, there is less information on the enzymatic reduction of the nitro groups of nitramines. Studies of the biodegradation of nitroamine explosives - hexogen and octogen showed nitro reduction of nitramines, which occurs only in anaerobic conditions with the formation of stable nitroso-intermediate compounds, which is obviously due to the fact that nitro products I do not participate in biological nitrosation. Nitroreductases can reduce a wide range of nitroaromatic and nitroheterocyclic compounds [23].

The authors [24] in the study of bacteria *Pseudomonas* sp. a CISI strain capable of growing on 2,4,6-trinitrotoluene was isolated.

Using the methods of high performance liquid chromatography, gas chromatography with mass spectrometric detection and NMR, compounds were isolated and identified after biological recovery of *Pseudomonas* sp.: 2-amino-4,6-dinitrotoluene; 4-amino-2,6-dinitrotoluene; 4,6-dinitro-2-hydroxylaminotoluene; 2,6-dinitro-4-hydroxylaminotoluene; 2,2',6,6'-tetranitro-4,4'-azoxytoluene; 4,4',6,6'-tetranitro-2,2'-azoxytoluene and 2',4,6,6'-tetranitro-2,4'-azoxytoluene. All selected compounds were characterized spectrophotometrically.

The conducted studies showed that the bacterium *Pseudomonas* sp. in addition to removal of nitro groups, dinitrotoluene can be reduced to amino derivatives that are not used as a source of nitrogen. Complete mineralization of TNT and DNT to CO₂; NO₂ and H₂O are an indispensable condition for the bioregeneration of polluted areas. Biological reduction of TNT and DNT to stable amino derivatives and production of more stable azoxytoluenes is a serious obstacle to this process.

Biodegradation of TNT by fungi. The use of fungi for bioremediation of TNT has attracted considerable interest recently. The white rot fungus *Phanerochaete Chrysosporium* produces a complex system of extracellular peroxidases, small organic molecules and hydrogen peroxide to decompose lignin. The ligninolytic system is nonspecific and can biodegrade a wide range of synthetic chemicals, including nitroaromatics.

Механізм, за допомогою якого гриби мінералізують вибухову речовину (ТНТ), невідомий. Однак при інкубації лігнінолітичних культур *Phanerochaete Chrysosporium* ТНТ було ідентифіковано ряд сполук (рис. 3), серед яких – 4-гідроксиламіно-2,6-ДНТ та 2-аміно-4-формамідо-6-нітротолуол є субстратами для лігнінпероксидази.

The mechanism by which fungi mineralize explosive substance (TNT) is unknown. However, during the incubation of ligninolytic cultures of *Phanerochaete Chrysosporium* TNT, a number of compounds were identified (Fig. 3), among which 4-hydroxylamino-2,6-DNT and 2-amino-4-formamido-6-nitrotoluene are substrates for lignin peroxidase.

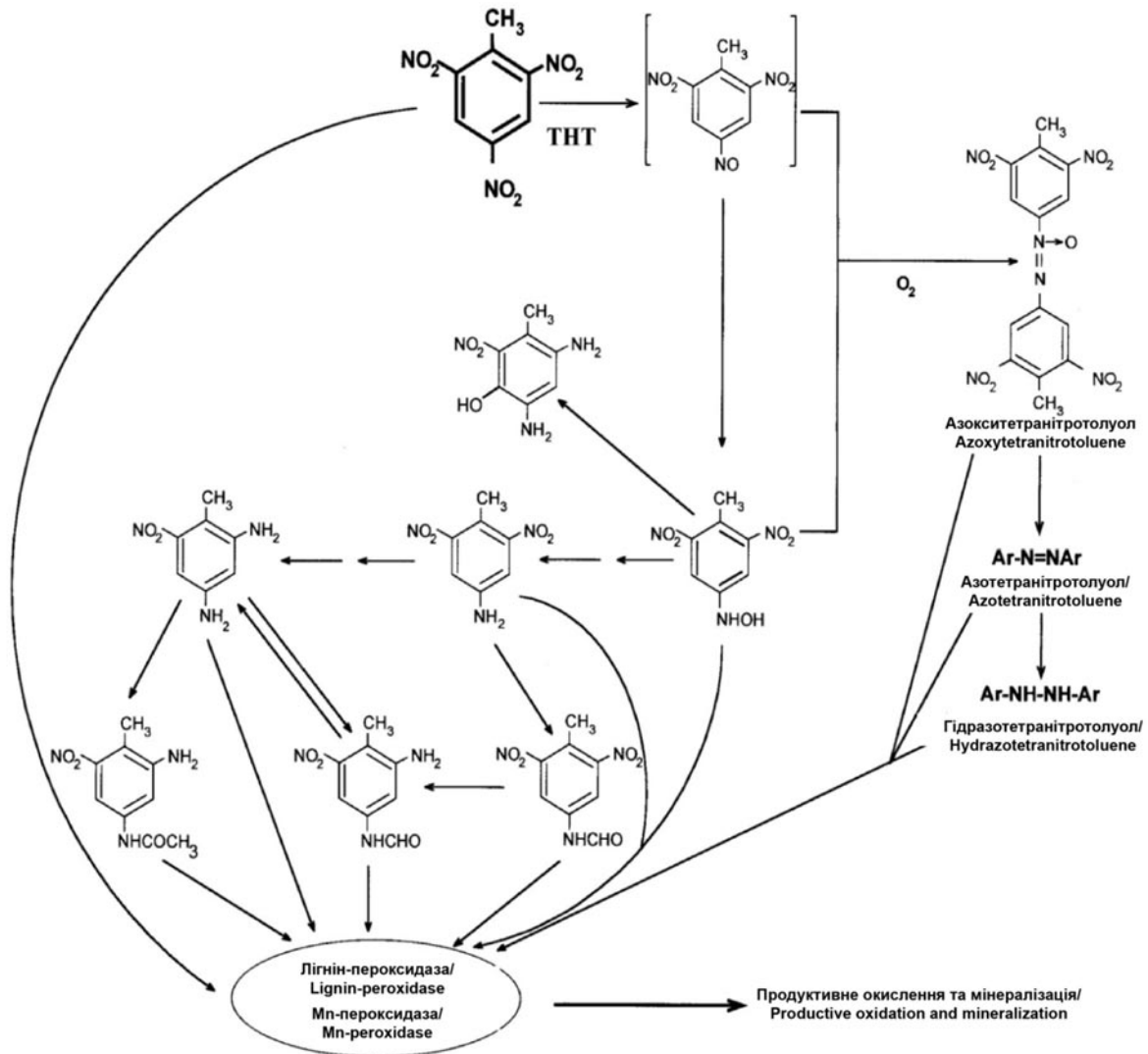


Рис. 3. Механізми грибової деградації ТНТ.

Fig. 3. Mechanisms of TNT fungal degradation.

Основною перешкодою практичного застосування грибів білої гнилі для біодеградації тротилу була його токсичність для гриба. Дослідження механізму токсичності тротилу показали, що вихідна сполука та її амінопохідне не токсичні для *Phanerochaete Chrysosporium*. На відміну від 4-гідроксиламіно-2,6-динітротолуола, 2-гідроксиламіно-4,6-динітротолуол різко інгібує окислення вератрилового спирту лігнінопероксидазою, перетворення вератрилового спирту на вератриловий альдегід необхідно для виробництва органічних радикалів первинними субстратами для лігнінпероксидази [14].

The main obstacle to the practical use of white rot fungi for the biodegradation of TNT was its toxicity to the fungus. Studies of the toxicity mechanism of TNT showed that the original compound and its amino derivative are not toxic to *Phanerochaete Chrysosporium*. Unlike 4-hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene, 2-hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene sharply inhibits the oxidation of veratryl alcohol by lignin peroxidase, the conversion of veratryl alcohol to veratryl aldehyde is necessary for the production of organic radicals as primary substrates for lignin peroxidase [14].

Крім грибів білої гнилі, інші штами грибів, що належать до базидіоміцетів, що розкладають деревину та підстилку, були перевірені на їхню здатність метаболізувати та мінералізувати ТНТ [25].

Значна мінералізація ТНТ виявлена у *Clitocybula Dusenii* TMB 12 (42%) та *Stropharia Rugosoanulate* DSM 11372 (36%) у лігнолітичних умовах, що свідчить про важливу роль лігнолітичних систем у процесі мінералізації цими грибами. Недоліком цієї системи є те, що ці гриби мешкають у деревині, а не в ґрунті та можуть не конкурувати з місцевими ґрунтовими грибами в умовах польової реабілітації.

Застосування біоремедіації нітроароматичних сполук. Біоремедіація – це ефективний метод знезараження території у всьому світі, забруднених полінітроароматичними сполуками. У зв'язку з цим в останнє десятиліття проведено безліч досліджень з фізіології, біохімії та генетики організмів, які потенційно можуть бути використані в цих біолікуваннях, у тому числі для пошуку ферментів, що беруть участь у деградації нітроароматичних сполук. Серед цих ферментів особливий біотехнологічний інтерес представляє бактеріальні нітроредуктази, що каталізують послідовне перенесення електронних пар на нітрогрупи ароматичних сполук з утворенням нітросо-, гідроксиламіно-і амінопохідних. Крім підходів до біоремедіації та біокаталізу, бактеріальні нітроредуктази можуть використовуватись у різних медичних цілях. Нітроредуктази можуть відновлювати широкий спектр нітроароматичних та нітрогетероциклічних сполук.

У біоремедіації зазвичай використовується аеробні умови як для прискорення мінералізації органічних сполук до CO_2 і H_2O , так і тому, що аеробні біореактори досягають більш високої продуктивності, ніж анаеробні системи, з меншим утворенням мулу та побічних продуктів з неприємним запахом.

Оскільки нітроароматичні вибухові речовини стійкі до окислення, деякі дослідники використовували супутній органічний субстрат для стимуляції їхнього метаболізму (глюкоза, лимонна кислота) [26].

Буопаті та Меннінг [27] використовували поверхнево-активну речовину Tween 80 для підвищення біодоступності та забезпечення вуглецевого ко-субстрату для підвищення мінералізації ТНТ в реакторі з ґрунтовою суспензією.

Останнім часом видалення токсичних речовин методом фіторемедіації присвячено багато робіт. Фіторемедіація передбачає використання зелених рослин для відновлення забрудненого ґрунту чи води. Фіторемедіація включає кілька різних технологій: фітоекстракція включає біоконцентрацію забруднюючих речовин в зонах збору врожаю рослини; фітостабілізація знижує біодоступність забруднюючих речовин, пов'язуючи їх у тканинах рослин. При фітодеградації ферментні системи рослин та рослинно-асоційовані мікроорганізми розкладають токсичні сполуки, у той час як при

In addition to white rot fungi, other wood- and litter-decomposing basidiomycete fungal strains have been tested for their ability to metabolize and mineralize TNT [25].

Significant TNT mineralization was found in *Clitocybula Dusenii* TMB 12 (42%) and *Stropharia Rugosoanulate* DSM 11372 (36%) in lignolitic conditions, which indicates the important role of lignolitic systems in the process of mineralization by these fungi. A disadvantage of this system is that these fungi inhabit wood, not soil, and may not compete with native soil fungi under field rehabilitation conditions.

Application of bioremediation of nitroaromatic compounds. Bioremediation is an effective method of decontamination of areas around the world contaminated with polynitroaromatic compounds. In this regard, in the last decade, a lot of research has been carried out on the physiology, biochemistry and genetics of organisms that can potentially be used in these biotreatments, including the search for enzymes involved in the degradation of nitroaromatic compounds. Among these enzymes, bacterial nitroreductases are of particular biotechnological interest, catalyzing the sequential transfer of electron pairs to the nitro groups of aromatic compounds with the formation of nitroso-, hydroxylamino-, and amino derivatives. In addition to bioremediation and biocatalysis approaches, bacterial nitroreductases can be used for various medical purposes. Nitroreductases can reduce a wide range of nitroaromatic and nitroheterocyclic compounds. Bioremediation commonly uses aerobic conditions both to accelerate the mineralization of organic compounds to CO_2 and H_2O and because aerobic bioreactors achieve higher productivity than anaerobic systems with less sludge and odorous by-products. Since nitroaromatic explosives are resistant to oxidation, some researchers have used an accompanying organic substrate to stimulate their metabolism (glucose, citric acid) [26].

Buopati and Manning [27] used the surfactant Tween 80 to increase bioavailability and provide a carbon cosubstrate to enhance TNT mineralization in a soil slurry reactor.

Recently, many works have been dedicated to the removal of toxic substances by the phytoremediation method. Phytoremediation involves the use of green plants to restore contaminated soil or water. Phytoremediation includes several different technologies: phytoextraction involves the bioconcentration of pollutants in the plant's harvest zones; phytostabilization reduces the bioavailability of pollutants by binding them in plant tissues. In phytodegradation, plant enzyme systems and plant-associated microorganisms break down toxic compounds, while in phytovolatilization, plants are used to volatilize pollutants. Although

фітолетучості рослини використовуються для випаровування забруднюючих речовин. Хоча рослини можуть поглинати хімічні речовини з парової, рідкої та твердої фаз.

Нітроредуктаза та лаккази є ферментами, що беруть участь у фітодеградації нітроароматичних сполук.

Коренева система також може відігравати активну роль у відновленні; ризофільтрація відноситься до адсорбції та абсорбції забруднювачів цим шляхом. Прискорене видалення TNT із активної ризосферної зони спостерігалось під час використання степової трави. Секреція цукрів, спиртів та кислот рослини сприяє зростанню ризосферних бактерій навколо кореневої системи, які посилюють розкладання забруднюючих речовин за рахунок зволоження органічних речовин або секреції ферментів, таких як пероксидази. Описано ряд рослин, таких як жовта осока [28], кущова квасоля [29], просо [30], гібридна тополя та ін.

У більшості випадків, трансформація TNT рослинами супроводжувалося появою його моноаміноподібних 2- та 4-ADNT. Деякі рослини пов'язують або інтегрують метаболіти у біомасу у вигляді кон'югатів.

Утворення таких кон'югатів органічних сполук ксенобіотиків є важливою захисною фазою детоксикаційного метаболізму рослин. Первинні продукти відновлення TNT беруть участь у освіті таких кон'югатів. Нещодавно були розроблені трансгенні рослини, які експресують мікробні ферменти деградації для біоремедіації TNT. Трансгенні рослини тютюну, що несуть ген *onr* ("organic nitrate reductase" – органічна нітратредуктаза), який кодує PETN-редуктазу (Pentaerythritol tetranitrate reductase) з *Enterobacter cloacae*, показали визначувану експресію ферменту редуктази в тканинах. Трансгенні рослини, які експресують фермент, що розкладає вибухові речовини, здатні проростати і рости в присутності концентрацій вибухових речовин, що інгібують рослини дикого типу [31, 32].

Компостування та біореактори. Цікавим підходом до біодеградації нітроароматичних сполук є використання методу компостування. В даний час розроблені біореактори, які враховують фізичні, хімічні та мікробіологічні (в сенсі мікробнокаталізованих реакцій, яким піддається з'єднання) властивості нітроароматичних сполук. Компостування було запропоновано як технологію біоремедіації нітроароматичних сполук.

Автори Peres C.M. і Agathos S.N. ідентифікували продукти біотрансформації TNT у термофільних умовах та виявили, що вони аналогічні продуктам, що утворилися в мезофільних умовах [33]. Раніше Williams R.T. із співавт. виявили, що період напіврозпаду тротилу був коротшим у термофільних, ніж у мезофільних статичних палях, що аеруються [34].

Аеробні/безкисневі умови створювалися в ґрунтовому шламовому реакторі (що глибше в шлам, тим

plants can absorb chemicals from the vapor, liquid and solid phases.

Nitroreductase and laccases are enzymes involved in phytodegradation of nitroaromatic compounds.

The root system can also play an active role in recovery; rhizofiltration refers to the adsorption and absorption of pollutants by this route. Accelerated removal of TNT from the active rhizosphere zone was observed when steppe grass was used. The secretion of sugars, alcohols and acids by the plant promotes the growth of rhizospheric bacteria around the root system, which enhance the decomposition of pollutants by moistening organic matter or secreting enzymes such as peroxidases. A number of plants have been described, such as yellow sedge [28], bush bean [29], millet [30], hybrid poplar, etc.

In most cases, the transformation of TNT by plants was accompanied by the appearance of its monoamino derivatives 2- and 4-ADNT. Some plants bind or integrate metabolites into biomass in the form of conjugates.

The formation of such conjugates of organic compounds of xenobiotics is an important protective phase of the detoxification metabolism of plants. The primary products of TNT reduction participate in the formation of such conjugates. Transgenic plants expressing microbial degradation enzymes for TNT bioremediation have recently been developed. Transgenic tobacco plants carrying the *onr* gene (organic nitrate reductase), which encodes a PETN reductase (Pentaerythritol-tetranitrate-reductase) from *Enterobacter cloacae*, showed detectable expression of the reductase enzyme in tissues. Transgenic plants expressing an enzyme that degrades explosives are able to germinate and grow in the presence of concentrations of explosives that inhibit wild-type plants [31, 32].

Composting and bioreactors. An interesting approach to the biodegradation of nitroaromatic compounds is the use of the composting method. Currently, bioreactors have been developed that take into account the physical, chemical and microbiological (in the sense of microbially catalyzed reactions to which the compound undergoes) properties of nitroaromatic compounds. Composting was proposed as a bioremediation technology for nitroaromatic compounds.

Peres C.M. and Agathos S.N. identified the biotransformation products of TNT under thermophilic conditions and found that they are similar to the products formed under mesophilic conditions [33]. Previously Williams R.T. with coauthor discovered that the half-life of TNT was shorter in thermophilic than in mesophilic static aerated piles [34].

Aerobic/anoxic conditions were created in a soil slurry reactor (the deeper the slurry, the less oxygen) which was used in batch or semi-continuous mode to

менше кисню), який використовувався в періодичному або напівбезперервному режимі для дезактивації забрудненого вибуховими речовинами ґрунту. Експерименти з радіоактивно міченим тротилом показали, що 23% його мінералізували [35].

У разі великої кількості нітрозаміщених ароматичних сполук продукти відновлення можуть бути незворотно іммобілізовані в компонентах ґрунту або компосту. 2,4,6-триамінотолуол (ТАТ), отриманий у результаті анаеробного відновлення тротилу, постійно реагує з компонентами ґрунту.

Висновки. Сьогодні впровадження ефективних методів утилізації вибухових речовин є важливим питанням не лише для військової справи. Наукові дослідження і сучасний воєнний досвід свідчать про те, що біоремедіація та фіторемедіація вибухових речовин (особливо тротилу, гексогену та октогену) є перспективними методами усунення негативного впливу нітроароматичних сполук на довкілля, а дослідження молекулярних механізмів біодеградації є актуальним напрямком наукових досліджень. Важливим є створення на державному рівні після деокупації та гуманітарного розмінування деокупованих частин нашої країни регіональних центрів впровадження методик біоремедіації та фіторемедіації, задля якнайшвидшого їх практичного масового впровадження. Це надасть можливість максимально зменшити антропогенний вплив на живі організми продуктів деструкції вибухових речовин та повернення регіонів у нормальне та активне економічне життя країни.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів

decontaminate explosives-contaminated soil. Experiments with radioactively labeled TNT showed that 23% of it was mineralized [35].

In the case of large amounts of nitro-substituted aromatic compounds, the reduction products may be irreversibly immobilized in soil or compost components, TAT, obtained as a result of anaerobic reduction of TNT, constantly reacts with soil components.

Conclusions.

Today, the implementation of effective methods of disposal of explosives is an important issue not only for the military. Scientific research and modern military experience indicate that bioremediation and phytoremediation of explosives (especially TNT, hexogen and octogen) are promising methods of eliminating the negative impact of nitroaromatic compounds on the environment, and the study of molecular mechanisms of biodegradation is an actual direction of scientific research.

It is important to create at the state level after the deoccupation and humanitarian demining of the deoccupied parts of our country regional centers for the implementation of bioremediation and phytoremediation techniques, for their practical mass implementation as soon as possible. This will provide an opportunity to maximally reduce the anthropogenic impact on living organisms of the products of the destruction of explosive substances and return the regions to the normal and active economic life of the country.

Conflict of interest. The Authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ / REFERENCES

- Chatterjee S, Deb U, Datta S, Walther C, Gupta DK. Common explosives (TNT, RDX, HMX) and their fate in the environment: Emphasizing bioremediation. *Chemosphere*. 2017 Oct;184:438-451. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.06.008.
- Kovacic P, Somanathan R. Nitroaromatic compounds: Environmental toxicity, carcinogenicity, mutagenicity, therapy and mechanism. *J Appl Toxicol*. 2014 Aug;34(8):810-24. DOI: 10.1002/jat.2980
- Ju K-S, Parales RE. Nitroaromatic compounds, from synthesis to biodegradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2010. P. 250-72. DOI: 10.1128/MMBR.00006-10.
- Bilal M, Bagheri AR, Bhatt P, Chen S. Environmental occurrence, toxicity concerns, and remediation of recalcitrant nitroaromatic compounds. *J Environ Manage*. 2021 Aug 1;291:112685. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.112685.
- Craig H, Sisk WE, Nelson MD, Dana WH. Bioremediation of Explosives Contaminated Soils: A Status Review. *Proceedings of the 10th Annual Conference on Hazardous Waste Research*. 1995. 164-77. URL: https://www.researchgate.net/publication/237469945_Bioremediation_of_Explosives_Contaminated_Soils_A_Status_Review.
- Ariyaratna T, Vlahos P, Smith RW, Fallis S, Groshens T, Tobias C. Biodegradation and mineralization of isotopically labeled TNT and RDX in anaerobic marine sediments. *Environ Toxicol Chem*. 2017 May;36(5):1170-80. DOI: 10.1002/etc.3666.
- Panz K, Miksch K. Phytoremediation of explosives (TNT, RDX, HMX) by wild-type and transgenic plants. *J Environ Manage*. 2012 Dec 30;113:85-92. DOI: 10.1016/j.jenvman.2012.08.016.
- Zhang T, Zhang H. Microbial Consortia Are Needed to Degrade Soil Pollutants. *Microorganisms*. 2022 Feb; 10(2): 261. DOI: 10.3390/microorganisms10020261.
- Menezes O, Owens C, Rios-Valenciana EE, Sierra-Alvarez R, Field JA, Spain JC. Designing bacterial consortia for the complete biodegradation of insensitive munitions compounds in waste streams. *Biotechnol Bioeng*. 2022 Sep;119(9):2437-2446. DOI: 10.1002/bit.28160.
- Alami NH, Shoraya UM, Nimatuzahroh F. The

- Influence of Microbial Consortium in Bioremediation Process using Bioreactor. PTEK, Journal of Science, Vol. 1 No. 1, 2014 (eISSN: 2337-8530). DOI:10.12962/j23378530.v1i1.a436.
11. Li X, Wu S, Dong Y, Fan H, Bai Z, Zhuang X. Engineering Microbial Consortia towards Bioremediation. *Water* 2021, 13, 2928. DOI: 10.3390/w13202928.
 12. Hayaishi O, Nozaki M. Nature and mechanisms of oxygenases. *Science* 1969 № 164, p. 389-396. DOI: 10.1126/science.164.3878.389.
 13. Blasco RE, Wray MV, Pieper DH, Timmis K, Castillo F. 3-Nitroadipate, a metabolic intermediate for the mineralization of 2,4-dinitrophenol by a new strain of a *Rhodococcus* Species. *J. Bacteriol.* 1999. 181:149–152. DOI: 10.1128/jb.181.1.149-52.1999.
 14. Nishino SF, Paali GC, Spain JC. Aerobic degradation of dinitrotoluenes and pathway for bacterial degradation of 2,4-dinitrotoluene. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. 66, p. 2139-2147. DOI: 10.1128/aem.66.5.2139-47.2000.
 15. Haidour A, Ramos IL. Identification of products resulting from the biological reduction of 2,4,6-trinitrotoluene, 2,4-dinitrotoluene and 2,6-dinitrotoluene by *Pseudomonas* sp. *Environ. Sci. Technol.* 1996. 30. 2365-70.
 16. Honeycutt ME, Jarvis AS, Mc Farland YA. Cytotoxicity and mutagenicity of 2,4,6-trinitrotoluene and its metabolites. *Ecotoxicol. Environ. Sci.* 1996. 35, p. 282-287. DOI: 10.1006/eesa.1996.0112
 17. Rajan J, Valli K, Perkins RE, Sariaslani FS, Barns SM, Reysenbach A-L, Rehm S, Ehringer M, Pace NR. Mineralization of 2,4,6-trinitrophenol (picric acid): characterization and phylogenetic identification of microbial strains. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1996. 16:319–324. DOI: 10.1007/BF01570041.
 18. Ederer MM, Lewis TA, Crawford RL. 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) transformation by *Clostridia* isolated comparison with non-adapted bacteria. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1997. 18, p 82-8.
 19. Esteve-Nuner A, Caballero A, Ramos J. Biological degradation of 2,4,6-trinitrotoluene. *Microbiol. And Mol. Biol. Rev.* 2001. V. 65, №3, p. 335-352. DOI: 10.1128/MMBR.65.3.335-52.2001.
 20. Trinitrotoluene (TNT) as a sole nitrogen source for a sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio* sp. (B strain) isolated from an anaerobic digester. *Curr. Microbiol.* 1992. 25, p. 235-241. DOI: 10.1007/BF01570724.
 21. Schnell S, Schinck B. Anaerobic aniline degradation via reductive amination of 4-aminobenzoyl-CoA in *Desulfobacterium* aniline. *Arch. Microbiol.* 1991. 155, p. 183-190.
 22. Roldan M, Perez-Reinado E, Castillo F, Moreno-Vivián C. Reduction of polynitroaromatic compounds: the bacterial nitroreductases. *Microbiol. Rev.* 32, p. 474-500 (2008). DOI: 10.1111/j.1574-6976.2008.00107.x
 23. Dugue E, Haidour A, Godoy F, Ramos JL. Construction of a *Pseudomonas* hybrids train that mineralizes 2,4,6-trinitrotoluene. *J. Bacteriology.* 1993. V. 175, №8, p. 2278-2283. DOI: 10.1128/jb.175.8.2278-2283.1993.
 24. Van Aken B, Godefroid LM, Peres CM, Naveau H, Agathos SN. Mineralization of 14C-ring labeled 4-hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene by manganese – dependent peroxidase of the white-rot basidiomycete *Phlebiaradiata*. *J. Biotechnol.* 1999. 68, p. 159-169.
 25. Tharakan JP, Gordon JA. Cametabolic biotransformation of TNT supported by aromatic and non-aromatic cosubstrates. *Chemosphere*, 1999, 38(6), P. 1323–1330.
 26. Boopathy R, Manning J. Surfactant-enhanced bioremediation of soil contaminated with 2,4,6-trinitrotoluene in soils slurry reactors. *Water Environ. Res.* 1999. 71, №1, P. 119-124.
 27. Palazzo AJ, Leggett DC. Effect and disposition of TNT in a Terrestrial plant. *J. Environ. Qual.* 1986. 15, p. 49-52. DOI: 10.2134/jeq1986.00472425001500010012x.
 28. Harvey SD, Fellows RJ, Cataldo DA, Bean RM. Analysis of 2,4,6-trinitrotoluene and its transformation products in soils and plant tissues by high-performance liquid chromatography. 1990. *J. Chromatography*, 518 (2), p. 361-374. DOI: 10.1897/1551-5028(1998)017<2266:TOTBTA>2.3.CO;2
 29. Peterson MM, Horst GL, Shea PJ, Comfort SD. Germination and seedling development of switch grass and smooth brome grass exposed to 2,4,6-trinitrotoluene. *Environ. Pollut.* 1998. 99, p. 55-59. DOI: 10.1016/s0269-7491(97)00175-9.
 30. Thompson PL, Ramer LA, Schnoor JL. Uptake and transformation of TNT by hybrid poplar trees. *Environ. Sci. Technol.* 1998, 32, p. 975-980. DOI: 10.1021/es970799n.
 31. French CE, Rosser SJ, Davies GJ, Nicklin S, Bruce NC. Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing Pentaerythritol Tetranitrate Reductase. *Nat Biotechnol.* 1999. 17, p. 481-494. DOI: 10.1038/8673.
 32. French CE, Nicklin S, Bruce NC. Aerobic degradation of 2,4,6-trinitrotoluene by *Enterobacter cloacae* PB2 and by Pentaerythritol Tetranitrate Reductase. *Appl. Environ Microbiol.* 1998. 64, p. 2864-2868. DOI: 10.1128/aem.64.8.2864-2868.1998.
 33. Peres CM, Agathos SN. Biodegradation of nitroaromatic pollutants: from pathway store mediation. *Biotechnol. Ann. Rev.* 2000. V.6, p. 197-220. DOI: 10.1016/s1387-2656(00)06023-3.
 34. Williams RT, Ziegenfuss PS, Sisk WE. Composting of explosives and propellant contaminated soils under the thermophilic and mesophilic conditions. *J. Ind. Microbiol.* 1992. V.9, 137–144. DOI: 10.1007/BF01569746.
 35. Boopathy R, Manning J, Kulpa CF. A laboratory study of the bioremediation of 2,4,6-trinitrotoluene contaminated soil using aerobic/anoxic soil slurry reactor. *Water environment research.* 1998. 70(1), 80-86.

Вiдомостi про авторiв

Зульфiгаров Артур Олегович, кандидат хiмiчних наук, старший викладач кафедри загальної та неорганiчної хiмiї Нацiонального технічного унiверситету України «Київський полiтехнічний iнститут iменi Iгоря Сiкорського». Адреса: пр. Берестейський, 37, 03056, м. Київ, Україна. Email: sars2007@ukr.net. ORCID: 0000-0003-2840-0607.

Артамонов Михайло Сергiйович, науковий співробiтник науково-дослiдної лабораторії ТОВ «НБК «Екофарм». Адреса: вул. Набережно-Корчуватська, 136Б, 03045, м. Київ, Україна.

Email: artamonov.mykhailo@gmail.com. ORCID: 0009-0006-3988-1943

Зульфiгаров Олег Султанович, кандидат хiмiчних наук, завідувач науково-дослiдної лабораторії ТОВ «НБК «Екофарм». Адреса: вул. Набережно-Корчуватська, 136Б, 03045, м. Київ, Україна. ORCID: 0000-0001-5765-3705.

Стаття надiйшла до редакції 26.09.2023 р.

Information about authors

Artur O. Zulfigarov, candidate of chemical sciences, senior lecturer of the Department of General and Inorganic Chemistry of the National Technical University of Ukraine "Ihor Sikorskyi Kyiv Polytechnic Institute". Address: 37 Beresteyskyi Ave., 03056, Kyiv, Ukraine. Email: sars2007@ukr.net ORCID: 0000-0003-2840-0607.

Mykhailo S. Artamonov, researcher at the research laboratory of Ecopharm LLC. Address: Naberezhno-Korchuvatska Street, 136B, 03045, Kyiv, Ukraine. Email: artamonov.mykhailo@gmail.com ORCID: 0009-0006-3988-1943

Oleg S. Zulfigarov, candidate of chemical sciences, head of the research laboratory of Ecopharm LLC. Address: Naberezhno-Korchuvatska Street, 136B, 03045, Kyiv, Ukraine. ORCID: 0000-0001-5765-3705.

Received September, 26, 2023.