

В. В. Дячок, С. Т. Мандрик, В. В. Катишева, С. І. Гуглич  
Національний університет “Львівська політехніка”,  
кафедра екології та збалансованого природокористування

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ОКСИДІВ НІТРОГЕНУ НА ШВИДКІСТЬ ПОГЛИНАННЯ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ ХЛОРОФІЛСИНТЕЗУЮЧИМИ МІКРОВОДОРОСТЯМИ У ВОДНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

© Дячок В. В., Мандрик С. Т., Катишева В. В., Гуглич С. І., 2018

Досліджено вплив оксидів нітрогену на швидкість поглинання  $\text{CO}_2$  хлорофілсинтезуючими мікроводоростями типу *Chlorella*. Отримано експериментальні залежності приросту концентрацій мікроводоростей у часі за певних значень концентрації оксидів нітрогену в середовищі культивування. Побудовано математичну модель приросту біомаси мікроводоростей залежно від концентрації оксидів нітрогену. На основі розв'язку математичної моделі та отриманих експериментальних даних встановлено значення концентрації оксидів нітрогену для максимального приросту мікроводоростей.

**Ключові слова:** оксиди нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ), хлорофілсинтезуючі мікроводорості, приріст біомаси, математична модель, оптимальна концентрація.

V. V. Dyachok, S. T. Mandryk, V. V. Katysheva, S. I. Huhlych

## INVESTIGATION OF THE IMPACT OF NITROGEN OXIDES ON THE CARBON DIOXIDE UPTAKE RATE BY CHLOROPHYLL-PRODUCING MICROALGAE IN THE AQUATIC HABITAT

© Dyachok V. V., Mandryk S. T., Katysheva V. V., Huhlych S. I., 2018

The influence of nitrogen oxides on the  $\text{CO}_2$  uptake rate by chlorophyll-producing microalgae of *Chlorella* type was investigated. Experimental dependences of microalgae concentration growth over time under certain values of nitrogen oxides concentration in the culture medium were obtained. The mathematical model of microalgae biomass growth depending on nitrogen oxides concentration was developed. On the ground of the mathematical model solution and the experimental data obtained, the value of nitrogen oxides concentration for the maximal microalgae growth was determined.

**Key words:** nitrogen oxides ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ), chlorophyll-producing microalgae, biomass growth, mathematical model, optimum concentration.

**Постановка проблеми.** Сьогодні кліматичні зміни на Землі змушують бити на сполох всесвітню наукову спільноту та світових лідерів держав. Поштовхом є стрімке підняття температури, що спричинило таяння льодовиків, одним із наслідків чого є підняття рівня Світового океану, а в кінцевому результаті – катастрофічні наслідки у глобальному масштабі. Одним із способів вирішення цієї проблеми є зменшення концентрації  $\text{CO}_2$  в атмосфері за допомогою залучення фотосинтетичних властивостей рослинних організмів у промислових умовах. Це один із способів біологічного очищення, який ґрунтується на здатності хлорофілсинтезуючих

мікродоростей включати у схеми метаболізму речовини, що спричиняють забруднення навколишнього середовища, використовуючи їх для живлення у процесі своєї життєдіяльності. На відміну від інших зелених рослин мікродорості мають багато істотних переваг. Вони ростуть у 7–8 разів швидше та поглинають більші концентрації оксиду карбону. Цей факт дає змогу вважати доцільним досліджувати основи процесів очищення промислових газових викидів із застосуванням одноклітинних хлорофілсинтезуючих мікродоростей [1].

За умов спалювання палива, окрім оксидів карбону (CO<sub>2</sub>) та сульфуру (SO<sub>2</sub>), утворюється велика кількість оксидів нітрогену (N<sub>x</sub>O<sub>y</sub>), які в подальшому окислюються до NO<sub>2</sub> киснем повітря. Коли йдеться про очищення промислових газових викидів за участі хлорофілсинтезуючих мікродоростей, важливим є встановлення впливу оксидів нітрогену на процеси поглинання діоксиду карбону мікродоростями.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Серед відомих методів біологічне очищення має багато істотних переваг завдяки здатності мікроорганізмів адаптуватися до несприятливих умов: за високих концентрацій, складу суміші забруднювальних речовин тощо, що робить цей метод найефективнішим та найбезпечнішим [2]. Тому встановлення порогових концентрацій токсикантів, насамперед у фотобіореакторах, у яких відбуваються процеси поглинання парникових газів мікродоростями у промислових умовах, є нагальною потребою сьогодення.

В літературі є мало даних про вплив оксиду нітрогену (N<sub>x</sub>O<sub>y</sub>) на швидкість приросту біомаси мікродоростей. Тому важливо дослідити вплив оксиду нітрогену на їхню життєдіяльність.

**Мета роботи** – вивчити вплив оксидів нітрогену на швидкість поглинання діоксиду карбонохлорофілсинтезуючими мікродоростями типу *Chlorella* у водному середовищі.

**Теоретична частина.** Основою процесів масообміну клітини із зовнішнім середовищем є складна послідовність організованих в певний спосіб у часі та просторі біохімічних реакцій, у результаті яких відбувається зміна концентрації речовини, кількість окремих клітин, біомаса мікроорганізмів тощо.

У фотосинтетичних процесах поєднуються біологічні, хімічні та фізичні механізми. Як правило, найперспективнішими та найзручнішими для виконання завжди були такі технології, в яких поєднуються три елементи – фізичні, хімічні та біологічні. Побудована за таким принципом технологія дає людству необхідний кінцевий продукт з мінімальними затратами на виробництво та мінімальними викидами у навколишнє середовище. Таку технологію можна створити, тільки детально дослідивши, як це відбувається в одниничній клітині.

Дослідження біохімії процесу фотосинтезу у різних організмах (бактерії, мікродорості, вищі рослини) показало, що поряд з різноманітністю явищ є єдиний біохімізм процесу, який описується реакцією:



де  $DH_2$  – донор атомів водню (H<sub>2</sub>O; H<sub>2</sub>S);  $A$  – їхній акцептор, (CO<sub>2</sub>; NO<sup>-3</sup>).

Крім того, загальною ознакою процесу фотосинтезу є утворення аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ).

Вивчення закономірностей первинних фотосинтетичних процесів мікродоростей має велике практичне значення, оскільки забезпечить підвищення продуктивності цінних у господарському відношенні, нетрадиційних видів рухливих мікродоростей. Використання швидкого, дешевого і одночасно надійного методу контролю фізіологічного стану рухливих представників мікроскопічних водоростей є необхідним для контролю їхньої продуктивності за умов промислового фотосинтезу.

Найпростішою ланкою у ланцюзі поживних речовин мікродоростей є вуглекислий газ (CO<sub>2</sub>), вода та інші поживні речовини, які внаслідок фотосинтезу перетворюються в органічну речовину. Оскільки в середовищі культивування є певна кількість поживних речовин, то

мікродорості ростуть до того часу, поки вміст будь-якого необхідного їм компонента не досягне критичної величини, після чого ріст сповільнюється.

Аналізуючи склад фітопланктону, вчені дослідили, що вуглець, азот та фосфор є найважливішими та знаходяться у ньому в атомному співвідношенні 108:16:1. Отже, в розрахунку на один атом фосфору (переважно присутній у вигляді гідрофосфат-іону  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) та 16 атомів нітрогену (переважно у вигляді нітрат-іону  $\text{NO}_3^-$ ) потрібно 108 молекул  $\text{CO}_2$ . Це найважливіші компоненти процесу фотосинтезу [3].

Тому регулювання умов культивування мікродоростей за присутності токсикантів є необхідною умовою для досягнення високої продуктивності культури мікродоростей у промислових обсягах, що забезпечить високий ступінь очищення газових викидів.

Для дослідження обрано культуру зелених мікродоростей типу *Chlorella* (рис. 1). Мікроскопічні хлорофілсинтезуючі мікродорості типу *Chlorella* невибагливі до умов існування та здатні до інтенсивного розмноження, тому зустрічаються усюди: у прісних водоймах, морях та ґрунтах.

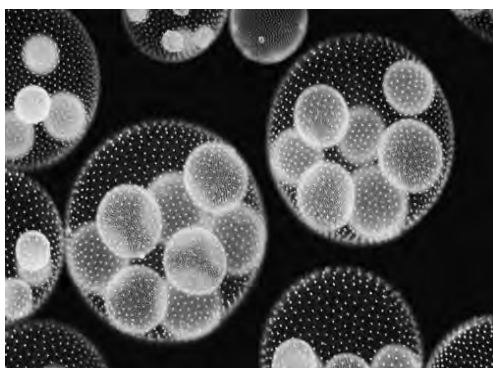


Рис. 1. Мікродорості типу *Chlorella*

З літературних джерел відомо, що концентрація оксидів нітрогену, яка згубно впливає на рослинний світ, знаходиться у межах  $0,17\text{--}0,35 \text{ мг/м}^3$  [4]. Тому важливо було дослідити концентрацію згубного впливу на мікродорості типу *Chlorella*. Поштовхом для роботи стали дослідження у межах цих концентрацій.

**Виклад основного матеріалу і обговорення результатів.** У процесі виконання цієї роботи об'єктом лабораторних досліджень була культура зелених мікродоростей – *Chlorella*. Для цього воду набрали із ставка, куди вносили стандартне живильне середовище, і додали культуру мікродоростей – *Chlorella*. Культивування відбувалося протягом 11 діб у шести фотобіореакторах об'ємом  $1 \text{ дм}^3$ . Живильні речовини – вуглекислий газ та елементи мінерального живлення клітини мікродорості отримували безпосередньо з навколишнього середовища барботуванням, засвоюючи їх усюю своєю поверхнею. Оскільки діоксид нітрогену засвоюється мікродоростями у вигляді аніону  $\text{NO}_3^-$ , для дослідження впливу оксидів нітрогену на приріст хлорофілсинтезуючих мікродоростей у першу ємкість був доданий аніон з концентрацією  $1,7 \text{ мг/м}^3$ , у другу –  $3,4 \text{ мг/м}^3$ , у третю –  $8,5 \text{ мг/м}^3$ , у четверту –  $15,6 \text{ мг/м}^3$ , у п'яту –  $34 \text{ мг/м}^3$ , а у шосту –  $68 \text{ мг/м}^3$ .

Приріст біомаси хлорофілсинтезуючих мікродоростей, за таких умов визначали фотоколориметричним методом з використанням синього світлофільтра згідно з законом Бугера-Ламберта-Бера.

Оскільки оптична густина пропорційна до концентрації мікродоростей, що підтверджується калібрувальним графіком, то одержані експериментальні дані накопичення біомаси мікродоростей залежно від часу у межах досліджуваної концентрації оксидів нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) відповідають значенням оптичних густин [5].

За зміни концентрації клітин (кількість клітин в одиниці об'єму суспензії) чи густини мікроорганізмів (суха маса мікроорганізмів в одиниці об'єму суспензії) визначали швидкість приросту мікрободоростей. На основі результатів експериментальних даних та розрахункових величин були отримані графічні залежності зміни концентрації клітин мікрободоростей у часі за відповідних концентрацій оксидів нітрогену ( $N_xO_y$ ) у розчині за умов їх одноразового введення (рис. 2. (1–2)).

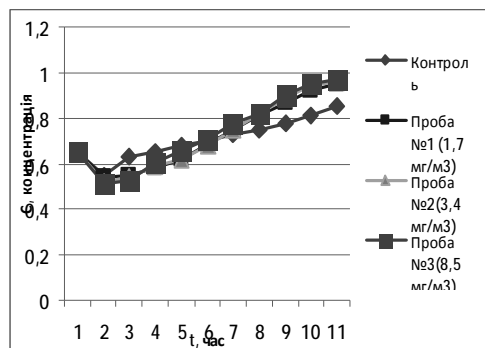


Рис. 2 (1). Залежність зміни концентрації клітин мікрободоростей у часі за відповідних концентрацій  $NO_3^-$

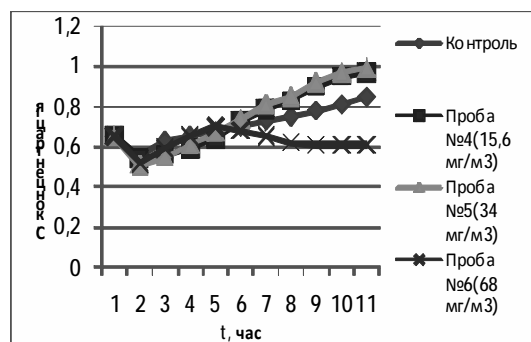


Рис. 2 (2). Залежність зміни концентрації клітин мікрободоростей у часі за відповідних концентрацій  $NO_3^-$

Аналізуючи дані (рис. 2 (1–2)), потрібно зазначити, що збільшення концентрації клітин мікрободоростей істотно залежить від концентрації оксидів нітрогену ( $N_xO_y$ ) порівняно з контролем, який не містив оксидів нітрогену. За таких умов приріст мікрободоростей у рідкому середовищі, яке добре перемішується, змінюється у часі залежно від концентрації оксидів нітрогену.

Із зростанням концентрації оксидів нітрогену ( $N_xO_y$ ) збільшується приріст клітин мікрободоростей, але до певного значення. Як бачимо з рис. 2 (2), 6 проба на другий день поводить себе так само, як інші, тобто теж адаптується, а з третього дня починається ріст, який навіть на п'ятий день є вищим, ніж у контрольній пробі, проте з шостого дня спостерігається спад і в наступні п'ять днів не спостерігається ні приросту, ні відмирання мікрободоростей. Подібна динаміка, але з меншим значенням концентрації спостерігається і в контрольній ємкості, яка не зазнала впливу оксидів нітрогену ( $N_xO_y$ ).

Основний параметр, який характеризує приріст мікрободоростей  $\Delta k$ , – це питома швидкість приросту:

$$\Delta k = \Delta C / C \times \Delta T, \quad (2)$$

де  $\Delta C$  – приріст концентрації мікрободоростей;  $C$  – концентрація мікрободоростей;  $\Delta k$  – питома швидкість росту або коефіцієнт питомого приросту ( $s^{-1}$ ).

З іншого боку, коефіцієнт приросту може бути визначений з рівняння [6]:

$$dC/dt = k \times C. \quad (3)$$

Згідно з цим рівнянням, коефіцієнт приросту характеризує відносний приріст густини мікрободоростей за одиницю часу. Якщо протягом певного часу  $\Delta k$  залишається незмінним, то такий приріст називається експоненційним, а відповідний йому проміжок часу – експоненційною фазою приросту [7].

Проінтегрувавши рівняння (3) та визначивши сталу інтегрування за умови, що в початковий момент часу  $t=0$  наявна вихідна концентрація клітин мікрободоростей  $C_0$ , то отримаємо

$$C = C_0 \times \exp(kt). \quad (4)$$

Оскільки логарифмічна залежність концентрації клітин мікрободоростей від часу у період експоненційного приросту є лінійною залежністю, то це дає можливість визначити коефіцієнт приросту  $k$  як тангенс кута нахилу прямої. Тому, підставивши експериментальні дані у рівняння (4), отримаємо залежність  $\ln C = f(t)$ , зображену на рис. 3 (1–2).

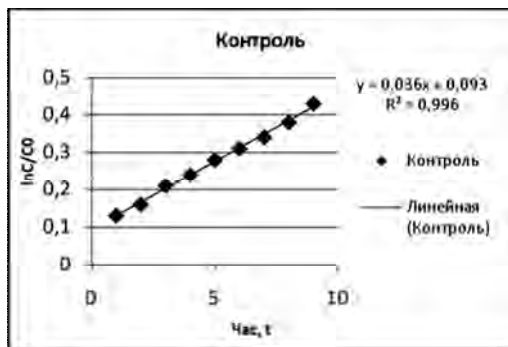


Рис. 3 (1). Залежність зміни логарифму концентрації суспензії клітин мікроводоростей від часу (контроль)

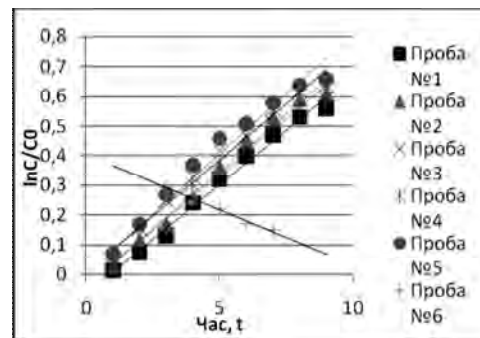


Рис. 3 (2). Залежність зміни логарифму концентрації суспензії клітин мікроводоростей від часу (за відповідних концентрацій  $\text{NO}_3^-$ )

Отримані залежності дають можливість визначити коефіцієнт приросту  $k$  як тангенс кута нахилу експериментальних прямих, які становлять: для контрольної прямої  $-0,036 \text{ с}^{-1}$ ; за концентрації  $1,7 \text{ мг/м}^3 - 0,075 \text{ с}^{-1}$ ; за концентрації  $3,4 \text{ мг/м}^3 - 0,076 \text{ с}^{-1}$ ; за концентрації  $8,5 \text{ мг/м}^3 - 0,077 \text{ с}^{-1}$ ; за концентрації  $15,6 \text{ мг/м}^3 - 0,078 \text{ с}^{-1}$ ; за концентрації  $34 \text{ мг/м}^3 - 0,079 \text{ с}^{-1}$ ; за концентрації  $68 \text{ мг/м}^3 - 0,037 \text{ с}^{-1}$ . Оскільки в 1–5 пробах є збільшення приросту біомаси мікроводоростей, то значення коефіцієнта приросту є додатним. У разі шостої проби відбувається зменшення приросту мікроводоростей, тому значення коефіцієнта приросту  $k$  є від’ємним.

Математичним формулюванням моделі приросту біомаси мікроводоростей за умови наростання концентрації оксидів азоту є система рівнянь [8]:

$$\begin{cases} \frac{dC}{dx} = k_1 C - k_2 C \\ \frac{dC}{dx} = k_1 C; \\ x = 0, C = C_o; \end{cases} \quad (5)$$

де  $x$  – концентрація оксидів нітрогену;  $k_1$ ,  $k_2$  – коефіцієнти приросту за сприятливих (активування) та несприятливих (інгібування) значень концентрації оксидів нітрогену;  $C$  – концентрація мікроводоростей у суспензії.

Розв’язком математичної моделі є рівняння, яке дає змогу визначити концентрацію для досягнення максимального приросту мікроводоростей:

$$x_{\max} = \frac{\ln k_2 - \ln k_1}{(k_1 + k_2)}. \quad (6)$$

Використовуючи дані математичної обробки результатів експериментальних досліджень приросту популяції, були обчислені відповідні значення коефіцієнтів приросту  $k_1$  та  $k_2$ . Після підстановки отриманих значень у рівняння (6) було розраховане оптимальне значення концентрації оксидів нітрогену у середовищі культивування:

$$x_{\max} = \frac{\ln k_2 - \ln k_1}{(k_1 + k_2)} = \frac{\ln(-0,037) - \ln 0,076}{(0,076 - 0,037)} = 18,46 \text{ мг/м}^3. \quad (7)$$

Це і є та концентрація оксидів нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ), за якої досягається максимальне значення концентрації біомаси мікроводоростей у середовищі культивування. Для перевірки адекватності математичної моделі та отриманого її розв’язку побудовано графік залежності приросту концентрації мікроводоростей від концентрації оксидів нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) на основі експериментальних даних.



Рис. 4. Залежність приросту концентрації мікроводоростей від концентрації  $N_xO_y$

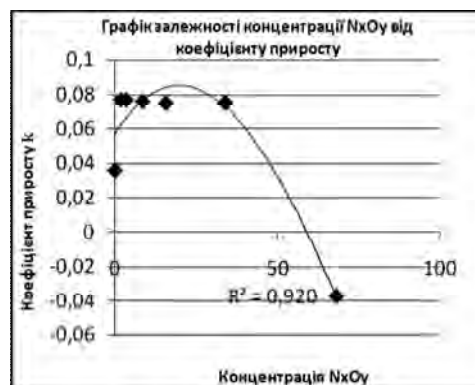


Рис. 5. Залежність концентрації  $N_xO_y$  від коефіцієнту приросту k

З рис. 4 бачимо, що максимальний приріст концентрації мікроводоростей досягається за концентрації  $N_xO_y \approx 18 \text{ мг/м}^3$ . Це свідчить про те, що математична модель доволі точно описує перебіг досліджуваного процесу, а отримані розв'язки дають можливість прогнозувати оптимальні параметри для здійснення технології поглинання парникових газів за умови присутності у них оксидів нітрогену ( $N_xO_y$ ).

Згідно з результатами математичної обробки експериментальних даних збільшення концентрації оксидів нітрогену пропорційне до зростання коефіцієнтів приросту біомаси, що зображено на (рис. 4), але до певних значень. За досягнення певного критичного значення концентрації ( $N_xO_y$ ) відбувається згубний вплив, що відображається на рис. 4.

Також отримавши коефіцієнти приросту k, був побудований графік залежності концентрації  $N_xO_y$  від коефіцієнта приросту (рис. 5).

**Висновки.** У роботі наведені результати експериментальних досліджень приросту біомаси хлорофілсинтезуючих мікроводоростей залежно від концентрації оксидів нітрогену ( $N_xO_y$ ). Наведена методологія обчислення концентрації мікроводоростей типу *Chlorella* у розчині та визначена швидкість приросту популяції мікроводоростей залежно від часу. Побудовано математичну модель приросту популяції мікроводоростей типу *Chlorella* залежно від концентрації оксидів нітрогену. На основі розв'язку математичної моделі та отриманих експериментальних результатів встановлено розрахункове значення оптимальної концентрації оксидів нітрогену ( $N_xO_y$ ) для приросту мікроводоростей.

1. *Розвиток і відтворення ресурсного потенціалу суб'єктів еколого-економічних, туристичних та екоінформаційних систем: моногр. / кол. авт.; за наук. ред. М. С. Мальованого.* – Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2015. – 340 с. 2. Дячок В. В., Гуглич С. І., Левко О. Б. Вивчення впливу температури на кінетику поглинання вуглекислого газу мікроводоростями // *Вісник Національного університету "Львівська політехніка" "Хімія, технологія речовин та їх застосування"*. – 2015. – № 812. – С. 365–372. 3. *Хімія в центрі наук / Т. Браун; пер. с англ. Е. Л. Розенберг.* – М.: Мир, 1983. – 520 с. 4. *Голдовская Л. Ф. Хімія окружающей среды: учеб. для вузов по специальности "Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов"*. – 3-е изд. – М.: Мир, 2008. – 295 с. 5. Dyachok V., Huhlych S., Yatchyshyn Y., Zaporochets Y., Katysheva V. *About the problem of biological processes complicated by mass transfer // Chemistry & Chemical Technology.* – 2017. – Т. 11, No. 1. – С. 111–116. 6. *Стеценко О. В., Виноградова Р. П. Біоорганічна хімія* – К.: Вища шк., 1992. – 278 с. 7. *Губський Ю. І. Біологічна хімія.* – К. – В.: Нова книга, 2007. – 137 с. 8. *Золотарьова О. К., Шнюкова Є. І., Сиваш О. О., Михайленко Н. Ф. Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / під ред. О. К. Золотарьової.* – К.: Альтерпрес, 2008. – 234 с.