

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

КАТИШЕВА ВІКТОРІЯ В'ЯЧЕСЛАВІВНА

УДК 628. 54

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ПІДВИЩЕННЯ РІВНЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ АТМОСФЕРИ**  
**ПОГЛИНАННЯМ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ ХЛОРОФІЛВМІСНИМИ**  
**МІКРОВОДОРОСТЯМИ**

101 Екологія  
10 Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ /В.В. Катишева/

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник

Дячок Василь Володимирович д. т. н., професор  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

ЛЬВІВ - 2020

## АНОТАЦІЯ

***Катишева В.В.* Підвищення рівня екологічної безпеки атмосфери поглинанням вуглекислого газу хлорофілвмісними мікродоростями.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 101 – «Екологія». Національний університет «Львівська політехніка», Міністерство освіти і науки України, Львів, 2020.

Захист дисертації відбудеться на засіданні спеціалізованої вченої ради ДФ 35.052.004. Національного університету «Львівська політехніка» Міністерства освіти і науки України.

В дисертаційному дослідженні вирішено важливе науково-практичне завдання – підвищення рівня екологічної безпеки атмосфери поглинанням вуглекислого газу хлорофілвмісними мікродоростями. Запропоновано спосіб очищення промислових газових викидів за участі хлорофілвмісних мікродоростей від парникових газів, зокрема вуглекислого газу, збільшення кількості якого в атмосфері є найдинамічнішим. Цей спосіб, за рахунок експериментально встановленого співвідношення компонентів CO<sub>2</sub> і SO<sub>2</sub> та технологічних параметрів, дозволить забезпечити поглинання вуглекислого газу в присутності діоксиду сульфуру та досягти підвищення ефективності очищення промислових газових викидів і тим самим підвищити рівень екологічної безпеки атмосфери.

Вивчено вплив таких факторів як температура, довжини світлової хвилі, присутність супутніх газів спалювання на динаміку поглинання вуглекислого газу, що адекватно приросту біомаси мікродоростей. Визначено оптимальну температуру, за якої відбувається максимальний приріст мікродоростей в досліджуваній системі. Визначено енергію активації біохімічної реакції зв'язування вуглекислого газу у біомасу (фотосинтезу) в досліджуваних умовах. Низьке значення якої засвідчує про доцільність застосування процесу фотосинтезу для поглинання вуглекислого газу.

Досліджено вплив довжини світлової хвилі на приріст біомаси мікродоростей. Експериментально підтверджено довжини хвиль у видимій

області спектру світла, які характеризується найбільшою інтенсивністю її приросту.

Запропоновано механізм транспорту вуглекислого газу та супутніх оксидів  $SO_2$  і  $N_xO_y$  із газової фази у внутрішній об'єм клітини хлорофілвмісних мікроводоростей в процесі очищення промислових газових викидів. Досліджено їх вплив на приріст біомаси мікроводоростей.

Доведено зворотнє, неконкурентне інгібування діоксидом сульфуру процесу поглинання вуглекислого газу мікроводоростями, а від так можливість управління технологією очищення промислових газових викидів змінюючи кількість субстрату - вуглекислого газу.

Визначено граничні концентрації потенційних активаторів на процеси поглинання вуглекислого газу. Встановлена концентрація оксидів азоту у середовищі поглинання, яка сприяє максимальному накопиченню біомаси мікроводоростей у фотобіореакторах.

Розроблено математичні моделі досліджуваних процесів та отримано їх рішення.

Узагальнюючи результати досліджень, розроблено основи технологічних процесів очищення промислових газових викидів від парникових газів хлорофілвмісними мікроводоростями, з подальшою біометанізацією отриманої біомаси. Запропонована технологічна схема дозволяє впливати на зниження кількості антропогенних факторів, які спричиняють зміни клімату, що є основою сучасних екологічно безпечних технологій.

**Ключові слова:** хлорофілвмісні мікроводорості, *Chlorella*, клітинна мембрана, вуглекислий газ ( $CO_2$ ), діоксид сульфуру ( $SO_2$ ), оксиди азоту ( $N_xO_y$ ), інгібітор, активатор, довжина світлової хвилі, температура, фотосинтез, біохімічна реакція, фермент, субстрат, ферментативна кінетика, рівняння Міхаеліса-Ментен, графік Лайнуівера-Берка.

## ABSTRACT

***Viktorii Katysheva. Increasing the level of environmental safety of the atmosphere by absorption of carbon dioxide by chlorophyll-containing microalgae.***

The dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy in specialty 101 - "Ecology". Lviv Polytechnic National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2020.

The defense of the dissertation will be held at the meeting of the Specialized Scientific Council DF 35.052.004 in Lviv Polytechnic National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

The important scientific-practical problem of the dissertation research - the increasing the level of environmental safety of the atmosphere by absorption of carbon dioxide by chlorophyll-containing microalgae has been solved. The method of purification of industrial gas emissions with the participation of chlorophyll-containing microalgae from greenhouse gases, in particular carbon dioxide, the increase of which in the atmosphere is the most dynamic, is proposed. This method, due to the experimentally established ratio of CO<sub>2</sub> and SO<sub>2</sub> components and technological parameters, will allow to ensure the absorption of carbon dioxide in the presence of sulfur dioxide and to improve the efficiency of purification of industrial gas emissions and thereby increase the level of environmental safety of the atmosphere.

The influence of such factors as temperature, light wavelength, presence of associated combustion gases on the dynamics of carbon dioxide absorption, which is adequate to increase the biomass of microalgae, was studied. The optimal temperature at which occurs the maximum increase of microalgae in the studied system is determined. The activation energy of the biochemical reaction of carbon dioxide binding in biomass (photosynthesis) under the investigated conditions was determined. The low value of this reaction indicates the feasibility of using the process of photosynthesis for carbon dioxide absorption.

The influence of light wavelength on the growth of microalgae biomass has been investigated. The wavelengths in the visible region of the light spectrum, which is characterized by the highest intensity of microalgae biomass growth, were experimentally confirmed.

The mechanism for transport carbon dioxide and associated  $\text{SO}_2$  and  $\text{N}_x\text{O}_y$  oxides from the gas phase into the internal cell volume of chlorophyll-containing microalgae in the process of purification of industrial gas emissions is proposed. Their influence on the growth of microalgae biomass has been investigated.

The reversible, non-competitive inhibition of sulfur dioxide of the absorption process of carbon dioxide by microalgae has been proved, and therefore the ability to control the technology of purification of industrial gas emissions by changing the amount of substrate - carbon dioxide.

The concentration limit of potential activators on the processes of carbon dioxide absorption are determined. The concentration of nitrogen oxides in the absorption medium, which contributes to the maximum accumulation of microalgae biomass in photobioreactors was established.

Mathematical models of the investigated processes are developed and their solutions are obtained.

Summarizing the results of the research, the basics of technological processes of purification of industrial gas emissions from greenhouse gases by chlorophyll-containing microalgae, with subsequent biomethanization of the obtained biomass were developed. The proposed technological scheme allows to reduce the number of anthropogenic factors that cause climate change, which is the basis of modern environmentally friendly technologies.

**Keywords:** chlorophyll-containing microalgae, *Chlorella*, cell membrane, carbon dioxide ( $\text{CO}_2$ ), sulfur dioxide ( $\text{SO}_2$ ), nitrogen oxides ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ), inhibitor, activator, light wavelength, temperature, photosynthesis, biochemical reaction, enzyme, substrate, enzyme kinetics, Michaelis-Menten equation, Lineweaver–Burk plot.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Патент на корисну модель: № 125539.

1. Патент України на корисну модель №125539 за заявкою u201712771/  
Спосіб очищення газових викидів за участі мікроводоростей. МПК C02F 3/34  
//Опубл. 10.05.2018 р. Бюл. №9.

Статті у наукових фахових виданнях, які включені до науково-метричних  
баз даних (Scopus):

2. Viktoriia Katysheva. About the problem of biological processes complicated by mass transfer / Vasyl Dyachok, Serhiy Huhlych, Yuri Yatchyshyn, Yulia Zaporochets, Viktoriia Katysheva // Chemistry & Chemical Technology. — Lviv : Lviv Politechnic Publishing House, 2017. — Vol 11. — No 1. — P. 111–116.

3. Victoriia Katysheva. Effect of Fuel Combustion Products on Carbon Dioxide Uptake Dynamics of Chlorophyll Synthesizing Microalgae. /Vasil Dyachok, Solomiya Mandryk, Victoria Katysheva, Serhiy Huhlych . // - Poland: Journal of Ecological Engineering, 2019. - Vol 20(6) - P. 18-24.

Статті у наукових фахових виданнях, які включені до науково-метричних  
баз даних (Index Copernicus):

4. Катишева В.В. Встановлення виду інгібування біохімічного процесу поглинання вуглекислого газу. /Дячок В.В., Катишева В.В.// м. Львів, 2018. Науковий вісник НЛТУ України, 28(5), с. 61-64., Україна, с. 61-64.

Статті у наукових фахових виданнях України:

5. Катишева В. В. / Поглинання вуглекислого газу із суміші повітря з діоксидом сірки. Дячок, В.В., Гуглич, С.І., Катишева, В.В., Мандрик, С.Т.// м. Одеса. 2017 р., Наукові праці, 81(1). с. 59-65.

6. Катишева, В.В. /Інгібітори та активатори процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікроводоростям. Дячок, В.В., Катишева, В.В, Гуглич, С.В, Мандрик, С.Т.// м. Одеса, 2018р., Наукові праці, 82(1) с. 77-82.

7. Viktoriia Katysheva./ The role of the wavelength of light in the dynamics of growth of chlorophyllsynthesizing microalgae due to the absorption of carbon dioxide. Dyachok V., Katysheva V., Huhlych S., Dyachok R.// Lviv, Environmental problems, 2018 y, Vol 3(1), p. 43-48.

8. Катишева В.В. /Дослідження впливу оксидів нітрогену на швидкість поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікрободоростями у водному середовищі. Дячок, В. В.; Мандрик, С. Т.; Катишева, В. В.; Гуглич, С. І. // Львів, 2018 р, Вісник Національного університету „Львівська політехніка”, с.171-176.

Опубліковані праці апробаційного характеру:

9. Катишева В.В. /Встановлення оптимальної довжини світлової хвилі при поглинанні CO<sub>2</sub> хлорофілсинтезуючими мікрободоростями. Дячок В.В., Катишева В.В., Тимочко В.І. // Збірник матеріалів Четвертого міжнародного 1 конгресу «Захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування.», 21-23 вересня 2016 р., м. Львів, с. 85.

10. Катишева В.В. /Масообмін в біологічних процесах. Дячок В.В.. Запорожець Ю.В., Катишева В.В. // Тези доповіді опубліковані у збірнику матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Удосконалення процесів і обладнання — запорука інноваційного розвитку харчової промисловості» Присвячена 65-річчю кафедри процесів і апаратів харчових виробництв НУХТ, 8-10 листопада 2016 р., м. Київ, с.33-34.

11. Viktoriia Katysheva / Determination of the activation energy of the reaction of photosynthesis in chlorophyll synthesizing microalgae. // Vasyl Dyachok, Viktoriia Katysheva // Litteris et Artibus: proceedings of the 6th International youth science forum, November 24–26, 2016, Lviv Polytechnic National University. – Lviv : Lviv Polytechnic Publishing House, 2016. – P. 486–487.

12. Катишева В.В. / Вплив діоксиду сульфуру на швидкість поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікрободоростями. Дячок, В. В., Катишева, В. В.; Гуглич, С. І. // Тези доповіді опубліковані у збірнику матеріалів Четвертого студентського конгресу «Захист навколишнього

середовища. Збалансоване природокористування», 26-27 квітня 2017 р., м. Львів, Україна, с.49-50.

13. Katysheva Viktoriia / «About problem of absorption of greenhouse gas by chlorophylsynthesizing microalgae in the presence of sulphur dioxide. Dyachok, Vasyl, Katysheva Viktoriia // Тези доповіді опубліковані у збірнику матеріалів VII міжнародного молодіжного наукового форуму «Litteris et artibus», 23-25 листопада 2017 р, м. Львів, с. 465-467.

14. Катишева В.В. / Дослідження процесу поглинання діоксиду карбону із суміші газу з діоксидом сульфуру.// Тези доповіді опубліковані у збірнику VI міжнародної науково-практичної конференції «інноваційні енерготехнології», 4-8 вересня 2017 року, м. Одеса, Україна., с. 85-92.

15. Катишева В.В. / «Investigation of the influence of the light spectrum on the growth efficiency of chlorophyll synthesizing Microalgae. Dyachok Vasyl, Katysheva Viktoriia // Тези доповіді опубліковані у збірнику матеріалів міжнародного молодіжного наукового форуму «Litteris et artibus», 22-24 листопада 2018 року, м. Львів, Україна, с. 375-376.

16. Катишева В.В. / Інгібітори та активатори процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікроводоростями. Дячок В.В., Гуглич С.І., Катишева В.В., Мандрик С.Т. // Тези доповіді опубліковані у збірнику XVII міжнародної науково-практичної конференції «інноваційні енерготехнології», 3-8 вересня 2018 року, м. Одеса, Україна., с. 76-79.

17. Катишева В.В./ Вивчення факторів впливу на процес поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікроводоростями типу chlorella. Дячок В.В., Гуглич С.І., Катишева В.В., Мандрик С.Т. // 5th International Congress «Sustainable Development: Environmental Protection. Energy Saving. Sustainable Environmental Management», 26-29th September 2018 , Lviv, Ukraine.



## ЗМІСТ

Вступ.....	13
Розділ 1 .....	18
Аналіз літературних джерел .....	18
1.1. Загальна характеристика мікроводоростей .....	18
1.1.1. Зелені мікроводорості <i>Chlorella</i> .....	20
1.1.2 Класифікація та будова синьозелених мікроводоростей .....	21
1.2. Умови росту мікроводоростей.....	24
1.2.2. Вплив температури на швидкість поглинання вуглекислого газу мікроводоростями .....	25
1.2.3. Вплив концентрації вуглекислого газу на швидкість його засвоєння мікроводоростями .....	26
1.2.4. Роль мінералізації середовища в процесах поглинання вуглекислого газу мікроводоростями .....	28
1.2.5 Альтернативне поживне середовище для мікроводоростей .....	28
1.2.6 Роль лужно-кислотного балансу (рН) в процесах поглинання вуглекислого газу мікроводоростями .....	30
1.2.7. Роль світла в процесах поглинання вуглекислого газу мікроводоростями .....	32
1.3. Обладнання, яке використовується для культивування мікроводоростей ...	32
1.3.1. Напівпромислове устаткування .....	33
1.3.2. Промислове устаткування .....	33
1.3.3 Світовий досвід культивування мікроводоростей в промислових умовах .....	35
1.4. Способи переробки біомаси мікроводоростей.....	40

	10
1.4.1. Анаеробна біометанізація з одержанням газу метану.....	41
Висновки до розділу 1 .....	43
Розділ 2.....	44
Методики та основні методи дослідження.....	44
2.1 Характеристика об'єкту поглинання парникових газів .....	44
2.2. Методика фотоколориметричного визначення вмісту мікроводоростей в одиниці об'єму середовища культивування.....	45
2.3. Методологія запису спектру поглинання водного розчину мікроводоростей.....	49
2.3.1 Методика запису спектру у видимій області .....	51
2.4. Методика визначення приросту біомаси мікроводоростей в залежності від температури .....	52
2.5. Методика визначення приросту біомаси в залежності від довжини світлової хвилі.....	54
2.6. Методика визначення приросту біомаси в залежності від концентрації діоксиду сульфуру (SO <sub>2</sub> ) .....	55
2.7. Методика визначення приросту біомаси в залежності від концентрації окислів нітрогену (NO <sub>x</sub> ).....	57
2.8. Методика визначення концентрації CO <sub>2</sub> за значенням рН.....	57
2.9. Методика визначення приросту концентрації біомаси.....	60
2.10. Прилади контролю приросту біомаси.....	60
Розділ 3 .....	63
Експериментальне дослідження механізму поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями .....	63
3.1. Вивчення механізму поглинання вуглекислого газу клітинами хлорофілвмісних мікроводоростей .....	63

3.1.1. Перший етап - перехід вуглекислого газу (CO <sub>2</sub> ) із газової фази у водну ..66	66
3.1.2. Другий етап: дифузія CO <sub>2</sub> до поверхні колоній біомаси мікроводоростей.....66	66
3.1.3. Третій етап: дифузія CO <sub>2</sub> в міжклітинному просторі до поверхні «умовно твердої» фази, клітини мікроводорості. ....67	67
3.1.4. Четвертий етап: дифузія через мембрану клітин колоній мікроводоростей.....67	67
3.1.5. П'ятий етап: фотосинтез.....68	68
3.2. Залежність приросту біомаси мікроводоростей від концентрації вуглекислого газу ..... 72	72
3. 3. Визначення часу подвоєння концентрації клітин мікроводоростей..... 84	84
3.4. Визначення числа поділів і часу генерації клітин ..... 86	86
3.5. Вивчення впливу температури на ефективність поглинання вуглекислого газу мікроводоростями ..... 88	88
3.5.1. Визначення енергії активації реакції фотосинтезу в умовах експерименту .....92	92
3.6. Дослідження динаміки поглинання вуглекислого газу мікроводоростями в залежності від довжини світлової хвилі ..... 96	96
Розділ 4 ..... 102	102
Встановлення виду інгібування процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями діоксидом сульфуру ..... 102	102
4.1. Дослідження впливу діоксиду сульфуру на процеси поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями ..... 102	102
4.2. Визначення коефіцієнту приросту ..... 108	108
4.3. Встановлення виду інгібування процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними водоростями..... 112	112

4.4 Активатори процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями .....	117
4.4.1 Математичний опис приросту біомаси мікроводоростей за участі окислів азоту .....	121
Висновки до розділу 4 .....	123
Розділ 5 .....	125
Промисловий спосіб поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями .....	125
5.1 Технологія знешкодження парникових газів у промислових умовах із застосуванням хлорофілвмісних мікроводоростей <i>Chlorella</i> .....	125
Висновки до розділу 5 .....	129
Загальні висновки.....	130
Список використаних джерел .....	132

## ВСТУП

**Актуальність роботи.** Однією із глобальних міждержавних проблем у екологічній сфері на сьогоднішній день є зростання вмісту парникових газів в атмосфері, що зумовлене антропогенними чинниками. Це створює передумови прийняття негайних рішень для їх усунення. Найбільшої уваги надається найпроблематичнішому серед них, вуглекислому газу. Він поглинає довгохвильову радіацію і є одним з ключових факторів, що створюють парниковий ефект в атмосфері. Для вирішення проблеми зростання вуглекислого газу в атмосфері та збільшення середньої температури Землі, лідери держав світу, зокрема України, підписали конвенцію на світовому кліматичному саміті 30 листопада 2015 р у місті Ле Бурже, Франція. Тут була досягнута домовленість про заходи, які б дозволили скоротити викиди парникових газів в атмосферу.

Такий стан речей зумовлює необхідність розроблення альтернативних методів знешкодження парникових газів. Одним із таких є використання процесу фотосинтезу хлорофілвмісних мікродоростями у промислових умовах. Переваги хлорофілвмісних мікродоростей над наземними рослинами полягають у їх здатності адаптуватися до несприятливих умов та поглинати у десятки разів більше вуглекислого газу за однаковий проміжок часу. Вони зберігають усі необхідні фотосинтетичні властивості при культивуванні в закритих системах. Завдяки таким властивостям мікродоростей можна досягти ефективного очищення промислових газових викидів від вуглекислого газу. Тому вивчення особливостей процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікродоростями, до прикладу *Chlorella* є актуальним завданням, що наблизить Україну до виконання Паризької кліматичної угоди від 12.12.2015 р., ратифікованої Верховною Радою, Закон № 1469-VIII від 14.07.2016 р., а також виконання домовленостей, висвітлених на форумі, 21 січня 2020 року в Давосі (Швейцарія).

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконана згідно науковому напрямку кафедри екології

та збалансованого природокористування Національного університету «Львівська політехніка» - «Розроблення інженерних методів захисту довкілля для забезпечення збалансованого розвитку суспільства», в межах науково-дослідної роботи - «Підвищення рівня екологічної безпеки атмосфери поглинанням вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями», № державної реєстрації 0118U007056.

#### **Мета та завдання дослідження.**

Метою роботи було дослідження процесу поглинання парникових газів хлорофілвмісними мікроводоростями, серед яких вуглекислий газ є найважливішим.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

- встановити механізм транспорту вуглекислого газу та інших парникових газів із газової фази у внутрішній об'єм клітини хлорофілвмісних мікроводоростей.
- дослідити вплив концентрації вуглекислого газу, температури та довжини світлової хвилі концентрації оксидів  $SO_2$  і  $N_xO_y$  на приріст біомаси мікроводоростей;
- встановити вид інгібування діоксидом сульфуру процесів поглинання парникових газів мікроводоростями;
- визначити граничну концентрації впливу активаторів на процеси поглинання парникових газів;
- розробити математичні моделі досліджуваних процесів та отримати їх рішення.
- узагальнити результати досліджень та розробити основи технологічних процесів очищення промислових газових викидів від парникових газів хлорофілвмісними мікроводоростями, з подальшою біометанізацією отриманої біомаси мікроводоростей.

**Об'єктом досліджень** є процеси поглинання парникових газів культурою хлорофілвмісних мікроводоростей.

**Предмет дослідження:** фактори, що впливають на ефективність поглинання парникових газів хлорофілвмісними мікроводоростями.

**Методи досліджень.** В процесі виконання роботи використовувались теоретичні і експериментальні методи дослідження. Зокрема відомі методи та засоби дослідження біологічних, дифузійних та кінетичних процесів, включаючи методи фізичного та фізико-хімічного аналізу рідинного середовища такі як: спектрофотометрія, фотоколориметрія, рН-метрія, титриметрія. Математичне узагальнення результатів та обробка експериментальних даних здійснювалась за допомогою програмного забезпечення у пакеті MS Excel, Visio та за допомогою автоматизованої системи проектування та креслення AutoCAD. Оцінка адекватності моделей проводилась статистичними методами.

### **Наукова новизна одержаних результатів:**

*вперше:*

- отримано математичні моделі поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями рішення яких дозволяють розраховувати основні константи процесу очищення газових викидів від парникових газів;

- встановлено інгібітори та активатори процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями;

- встановлено зворотне інгібіювання діоксидом сульфуру процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями і визначено вид інгібіювання;

- визначено допустиме значення концентрацій інгібітора та оптимальне активатора за яких поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями є найбільш сприятливим;

*отримало подальший розвиток;*

- обґрунтовання оптимальної температури процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями за умови присутності діоксиду сульфуру, оксидів нітрогену та інших супутніх оксидів;

- встановлено оптимальну довжину світлової хвилі для максимального поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями за умови присутності діоксиду сульфуру, оксидів нітрогену та інших супутніх оксидів;

- також наукова новизна результатів полягає в тому, що аналогів технології поглинання вуглекислого газу за присутності диоксиду сульфуру, оксидів нітрогену та інших парникових газів біологічним методом у вітчизняних джерелах не описано, що дозволяє стверджувати на даний момент не має аналогів в Україні.

### **Практичне значення одержаних результатів.**

Отримані результати досліджень дозволяють розробляти основи технології поглинання парникових газів та впроваджувати інноваційні методи очищення промислових газових викидів на підприємствах паливно-енергетичного комплексу та станціях переробки муніципальних відходів, тим самим наблизить Україну до виконання Паризької кліматичної угоди від 12.12.2015 р., ратифікованої Верховною Радою.

Аналіз експериментальних досліджень дозволив розробити та отримати спосіб очищення газових викидів за участі хлорофілвмісних мікроводоростей, на який отримано патент України на корисну модель, розроблено та впроваджено у навчальний процес методичні вказівки “Очищення газових викидів від вуглекислого газу біологічним методом за допомогою хлорофілвмісних мікроводоростей *Chlorella*”.

Наукові результати дисертаційної роботи використані у програмі лекційного курсу «Основи промислової екології», оскільки отримані результати стосуються зменшення забруднення атмосфери вуглекислим газом в межах роботи промислових підприємств.

**Особистий внесок здобувача.** Особистий внесок Катишевої В.В. полягає у опрацюванні літературних джерел за тематикою дисертації, проведенні експериментальних досліджень, обробленні та систематизації отриманих експериментальних результатів і обґрунтуванні їх у висновках. Отримано патент України на корисну модель. Постановка завдань, їхнє обговорення, планування експериментальних досліджень, формулювання ідей та основних теоретичних положень здійснено під керівництвом д.т.н., проф. Дячком В.В. Експериментальні та польові дослідження виконувалися самостійно.



**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертаційного дослідження доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях: Четвертий міжнародний конгрес «Захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування.» ( 21-23 вересня 2016 р., м. Львів, Україна); міжнародній науково-практичній конференції «Удосконалення процесів і обладнання — запорука інноваційного розвитку харчової промисловості» Присвячена 65-річчю кафедри процесів і апаратів харчових виробництв НУХТ(8-10 листопада 2016 р., м. Київ, Україна); Четвертому студентському конгресі «Захист навколишнього середовища. Збалансоване природокористування» (26-27 квітня 2017 р., м.Львів,Україна); VI міжнародному молодіжному науковому форумі «Litteris et artibus» (24–26 листопада, 2016 року, м. Львів, Україна); « Удосконалення процесів і обладнання — запорука інноваційного розвитку харчової промисловості» (8-10 листопада 2016 р., м. Київ, Україна); на VII міжнародному молодіжному науковому форумі «Litteris et artibus» (23-25 листопада 2017 року, м. Львів, Україна); на VI міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційні енерготехнології» ( 4-8 вересня 2017 року, м. Одеса, Україна);

### **Публікації.**

За темою дисертації опубліковані наступні наукові праці:

- 7 статей у наукових фахових виданнях України, та тих, що включені до наукометричних баз даних, зокрема 3, що належать до наукометричних баз даних: 2 Skopus, 1 Index Copernicus; 4 фахові;
- 9 тез доповідей на міжнародних та всеукраїнських конференціях та матеріалів конференцій;
- 1 патент на корисну модель.

**Структура та обсяг роботи.** Дисертаційна робота складається з вступу, 5 розділів, списку використаних літературних джерел, висновків. Матеріали дисертаційної роботи викладено на 147 сторінках машинописного тексту, ілюстровано 41 рисунком, текст містить 2 таблиці, 95 формул, у бібліографії наведено 157 літературних джерел.

## РОЗДІЛ 1

### АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

Науковці встановили, що люди є головними "винуватцями" зміни клімату, що має в 170 разів швидший вплив за природні чинники, їх діяльність призвела до неймовірно швидких темпів зміни екосистеми Землі.

Багато дослідників дедалі частіше стверджують, що саме відходи сучасних виробництв становлять серйозну загрозу цивілізації і з цим важко не погодитись. Відходи, що утворюються в результаті таких технологічних циклів потребують прогресивніших методів утилізації за рахунок замкнених енергозберігаючих технологій із застосуванням природньої здатності біосфери до самоочищення. Використання запозичених у живої природи процесів та елементів є основою для розробки майбутніх екотехнологій.

#### **1.1. Загальна характеристика мікроводоростей**

З розвитком сучасних технологій та утворенням надмірної кількості промислових забруднень виникає необхідність удосконалення існуючих методів очищення навколишнього середовища. Серед них широкого загалу набули так звані альтернативні, енергоефективні, методи знешкодження, зокрема із застосуванням біологічних об'єктів. Природньому навколишньому середовищу притаманна циклічність процесів, що в свою чергу лежить в основі енергозбереження. Використання запозичених у живої природи елементів та принципів стають основою для розробки майбутніх екотехнологій.

Із розвитком екобіотехнологій дедалі ширшим стає використання мікроскопічних водоростей, синьозелених (ціанобактерій, Cyanophyta) і одноклітинних зелених (Chlorophyta), які є унікальними біологічними об'єктами, що здатні адаптуватися у край несприятливих умовах існування.

За особливостю організації клітин водорості поділяються на без'ядерні прокаріоти та еукаріоти, які мають ядра. Стародавніми прокаріотами є мікроскопічні синьозелені мікроводорості, які є найбільш примітивними серед існуючих хлорофілвмісних мікроводоростей, що здатні здійснювати оксигенний фотосинтез. Вони вважаються одними з перших фотосинтетиків планети, що забезпечили формування атмосфери та виникненням рослин і тварин [3, 28, 46-48]. Хроококові синьозелені водорості та гормогонієві широко культивуються та досліджуються в лабораторних умовах для можливості подальшого використання. Деякі синьозелені водорості, головним чином Спіруліна, а також Носток, Синехоцистис та інші, знайшли застосування у господарській діяльності та вирощуються в свою чергу у напівпромислових і промислових умовах. [4, 26- 30, 48].

Зелені мікроводорості нараховують понад 20000 видів мікроскопічних мікроводоростей. Так само як і серед синьозелених водоростей у дослідженнях використовують тільки незначну частину їх видів, а саме *Chlamydomonales* Fritsch (*Chlamydomonas* Ehr.), *Dunaliellales* Ettl (*Dunaliella* Teod.), *Chlorococcales* Marchand (*Chlorella* Beijer., *Chlorococcum* Menegh., *Botryococcus* Kütz.), та інші.

Клітини водоростей *Chlamydomonas reinhardtii* Dang одноядерні і мають кулясту або яйцевидну форму, з діаметром 14-22 мкм. У клітинах зеленої мікроводорості *Dunaliella salina* Teod присутні два джгутики, а також вони мають яйцевидну чи еліпсоїдну форму. Малопрозорі колонії зеленої водорості *Botryococcus braunii* Kütz жовтуватого або червонувато-бурого кольору з негладкою поверхнею мають діаметр 100 до 500 мкм.

У мікроскопічних зелених мікроводоростей утворюється клітинна целюлозна стінка в декілька шарів, яка дозволяє збереженню більш менш постійної форми клітин. Форма і розміри ядер зелених мікроводоростей коливається залежно від життєвого циклу. Мікроводорість *Chlamydomonas reinhardtii* має еластичну семишарову клітинну стінку. До складу клітинної стінки *Chlamydomonas* входить глікопротеїн, вона не містить целюлози. Клітини у виду

*Dunaliella* не мають стінки. Хлоропласти у зелених мікроводоростей різняться за формою, розмірами і положенням у клітині.

### 1.1.1. Зелені мікроводорості *Chlorella*

Хлорелла вперше описана датським вченим Беєрніком у 1890 році. Свою назву вона отримала завдяки грецькому кореню «*chlogos*» - «жовто-зелений», та латинському закінченню «*ella*» - «маленький».

Хлорелла – одноклітинні мікроводорості, у яких обмежена рухома стадія і домінує нерухома, тому вони мають кокоїдний тип будови. Такий тип будови зустрічається у більшості мікроводоростей. *Chlorella vulgaris* – це одноядерні водорості із розміром ядра 1 мкм, які мають кулясту форму клітин діаметром 5-10 мкм. Мають чашоподібний хлоропласт.

На стінках *Chlorella* присутній внутрішній целюлозний шар та спорополеніновий. У його склад входять окиснені полімери каротиноїдних ефірів та безпосередньо каротину, з них складаються клітинні стінки спор та пилок вищих рослин. У цього роду присутня лише одна мітохондрія. Хлоропласти хлорели мають відтінки зеленого кольору та містять піреноїди. Зелений колір пояснюється вмістом  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\epsilon$  - каротинів,  $\alpha$  і  $\beta$  - хлорофілів, на відміну від синьозелених водоростей, а також вмістом ксантофілів: неоксантину, віолаксантину, зеаксантину, лютеїну, антераксантину [49, 50].

Нестача біогенних елементів, підвищення концентрацій хлористого натрію призводять до надмірного утворення каротиноїдів у клітинах мікроводорості.

Основним запасним полімером хлорели є крохмаль, у той час як він не міститься у деяких мікроводоростей. Він складається з амілози та амілопектину у різному співвідношенні і сконцентрований навколо піреноїдів *Chlorella*.

Хлорелла розмножується за допомогою автоспор, послідовним вегетативним поділом, який відбувається у рухомому і нерухомому стані. У випадку рухомого стану частковою диференціацією клітин слугує середовище культивування в якому вона не перебуває. У випадку нерухомого стану

диференційовання проходить за рахунок седиментації клітин різних розмірів подібно до частково диференційованого стану.

Мікродорості типу *Chlorella* активно накопичують вуглеводні, що лягає в основу їх використання у промисловості для знешкодження вуглекислого газу [3, 28, 51-53].

У порівнянні з наземними рослинами, мікродорості поглинають приблизно у десятки разів більше вуглекислого газу за однаковий проміжок часу, їх швидкість росту значно більша та відома витривалість до несприятливих умов існування. Їх здатність розвиватися в закритих системах зберігаючи при цьому фотосинтетичні властивості дає можливість застосовувати їх у промисловості для зв'язування великих кількостей вуглекислого газу, що є об'єктивною умовою для очищення промислових газових викидів від діоксиду карбону за допомогою фотосинтезу [1, 3, 81, 82].

### **1.1.2 Класифікація та будова синьозелених мікродоростей**

Існує три класи синьозелених мікродоростей, за якими відбувається поділ, це – *Chroococcorphyseae* (хрооококові), *Normogoniophyseae* (нормогонієві), *Chamaesiphonophyseae* (хамесифонові). В свою чергу хрооококові об'єднують у собі три порядки: хрооококові (*Chroococcales*), ентофізалієві (*Enthophysalidales*) та тубієлові (*Tubiellales*).

Синьозелені хрооококові – це мікроскопічні одноклітинні або колоніальні мікродорості, вкриті товстими і ослизненими оболонками. Їх клітини можуть мати різноманітну будову, але найчастіше кулясту та еліпсоподібну декількох типів. Одноклітинні мають кулясту, овальну, паличковидну, веретеновидну, пряму, зігнуту, а інколи плоску, квадратну і навіть трикутну форму, з безформними, кулястими, овальними, кубовидними або пластинчастими колоніями [26, 30, 60-65].

Найбільш поширені у водоймах України види роду мікроцистис (*Microcystis*), зокрема мікроцистис синьозелений (*Microcystis aeruginosa*), що

спричиняє влітку «цвітіння» води. Має характерну кулясту форму із слизовими оболонками, що утворює однорідну безбарвну або забарвлену слизову масу.

Ентофізалієві водорості можуть утворювати колонії, зв'язані у кулястий або кіркоподібний талом різної величини. В основному зростають в солоних озерах. Так, важлива роль належить водорості хлороглея сарциноподібна (*Chlorogloea sarcinoides*), яка відіграє роль в утворенні лікувальних грязей. Вона поширена у мінералізованих водах деяких озер Криму.

Тубієлові синьозелені водорості мають вигляд нитчастих колоній клітин, що вкриті слизовим футляром, який має трубчасту форму. Єдиний вид синьозелених мікроводоростей - *Johannesbaptistia pellucida* (йоханнесбаптистія прозора) зустрічається в мінералізованих водах, усі інші - ґрунтові види.

Хамесифонові синьозелені водорості об'єднують чотири порядки: *Dermocarpales* (дермокарпові), *Pleurocapsales* (плеврокапсові), *Endonematales* (ендонемові) та *Siphononematales* (сифоно-немові).

Плеврокапсові — переважно колоніальні нитчасті, їх талом складається з ниткоподібних утворень, що формують підшву.

Порядок дермокарпові — переважно одноклітинні організми кулястої, яйцевидної, грушовидної або булавоподібної форми. Можуть жити ізольовано або щільно прилягати один до одного. На території України трапляються в річках і озерах. Існує вид дермокарпа Свіренка, який поселяється на поверхні водоростей інших видів.

Порядки сифонемові та ендонемові об'єднуються у невеликі нитковидні колонії. Вид сифононема польська, який зустрічається у прісних гірських водах Криму [5, 66-72].

Найбільшим числом видів синьозелених водоростей є клас Гормогонієві (*Hormogoniophyceae*). До них належать водорості трьох порядків: стигонемові (*Stigonemataceae*), осциляторієві (*Oscillatoria*) та ностокові (*Nostoc*). Вони мають переважно однадерні або багатоядерні ниткоподібні таломі, клітини яких з'єднуються за допомогою плазмодесм. Мають прості поодинокі або зібрані в пучки чи в кулясті колонії нитки. Вони здатні плавно ковзати та коливатись у

воді. Гормогонієві можуть об'єднуватись в колонії з іншими ціанобактеріями як одноклітинними, так і багатоклітинними. Будова тіла у цього класу бактерій трихомональна, тобто, обов'язково присутній трихом. Це так званий ниткуватий утвір, що складається з декількох рядів клітин, найчастіше з одного [72-75].

СТИГОНЕМОВІ водорості мають найскладнішу внутрішню будову. Вони мають розгалужену будову тіла з утворенням скупчень ниток з різноманітною формою. Нитки можуть бути у вигляді відокремлених пасм, нитчастих кущоподібних утворень, а також плаваючих. Місце існування цих водоростей - стоячі водойми.

Осциляторієві поширені у водоймах різного типу живуть як в товщі води так і у донних відкладеннях. Перспективними об'єктами культивування у промислових масштабах є деякі види спіруліни.

До родини ностокових належать мікрководорості, що викликають так зване «цвітіння» води у поверхневих водоймах. Розрізняють *Anabaena flos-aquae* (анабена «цвітіння» води), *Aphanizomenon flos-aquae* (афанізоменон «цвітіння» води), *Anabaena spirroides* (анабена спіралеподібна) та інші [5, 16, 17, 26, 75-78].

Розмір клітин хроококових мікроскопічних синьозелених водоростей складає в межах від 0,5 до 60 мкм (2-5 мкм) шириною та від 1,5 до 100 мкм (3-15 мкм) в довжину [6,79].

Клітини гормогонієвих синьозелених водоростей різняться за фізіологічними функціями: вегетативні, азотфіксуючі, здатні до фотосинтетичної активності або нездатні та ін. Крім цього у деяких гормогонієвих є гетероцисти: клітини з двома порами, яким властива здатність фіксувати азот. Синьозелені водорості можуть утворювати спори – акінети, що характеризується утворенням нових шарів оболонки. Ця функція допомагає розмноженню мікрководоростей та адаптації до несприятливих умов.

Синьозелені водорості мають складну морфологічну будову не зважаючи на те, що у них не сформувались ядро оточене ядерною оболонкою і хлоропласти, мітохондрії та вакуолі, наповнені клітинним соком. Їхні клітини знаходяться всередині зовнішньої і плазматичної мембран, стінки клітин не гнучкі. Між

мембранами розташований шар мукополімеру муреїну, складної молекули, побудованої з одного полімеру який забезпечує захисну та опорну функцію. Клітинні стінки синьозелених мікродоростей також вкриті слизовою оболонкою, яка виділяється внаслідок екскреції складових з клітин мікродоростей. Не зважаючи на відсутність хлоропластів водорості мають добре розвинуту фотосинтетичну систему. Їх пігменти розташовані у цитоплазмі, здатні синтезувати лише хлорофіл та каротиноїди. Хлорофіл b в свою чергу відсутній. Наявні фікобілінові пігменти – фікоціанін, алофікоціанін, фікоеритрин.

ДНК клітини розташована у фібрилярно-зернистій нуклеоплазматичній ділянці клітини в хроматинових елементах, яка є еквівалентом ядра. Рибосоми мають вигляд гранул розміром 10-15 мкм і знаходяться в периферичній частині клітин.

Цикл розвитку певного виду характеризується біологічними процесами, що протікають в ньому від стадії розвитку організму до тої ж стадії її потомства. Синьозелених водоростей розмножуються шляхом простого поділу, цикл розвитку «простий», їх розмноження вегетативне, нестатеве. Статеве розмноження не виявлене. Клітини водоростей здатні ділитись надвоє рівним (іноді нерівним) поділом в декількох чи одній площині. Таким чином клітини діляться на неоднакові частини. Останній варіант поділу спостерігається в представників родів *Microcystis* та *Synechococcus*. Гормогонієві мікродорості поділяються в поперечній до подовжньої осі трихому. Розмноження в них, відбувається шляхом випадкової фрагментації, за допомогою гормогоній [17,25,52,80].

## **1.2. Умови росту мікродоростей**

Для розвитку мікродоростей необхідне живильне мінеральне середовище, джерело вуглекислого газу, енергія світла та певний температурний режим. Для одноклітинних мікродоростей нема стандартних режимів культивування. Серед їх великого різноманіття, кожна вимагає власних умов вирощування.



Ріст популяцій мікроводоростей, як правило обмежується одним, головним у певний момент лімітуючим фактором. Це може відбуватись через незбалансоване мінеральне середовище, низьку температуру, недостатнє освітлення.

Між параметрами культивування існує взаємозв'язок. Так, відхилення від оптимального значення одного з параметрів культивування вимагає корегування інших. Наприклад, за низької температури беззмисловим є створення високої інтенсивності світлового спектру, і навпаки, це може призвести до загибелі культури. Вплив параметрів культивування можна оцінити розглянувши докладніше кожен з них.

### 1.2.2. Вплив температури на швидкість поглинання вуглекислого газу мікроводоростями

Найбільш суттєвим параметром є температура суспензії. Підтримання цього параметра визначається кривою швидкості фотосинтезу, яка має вузьке плато оптимуму (рис.1.1.).

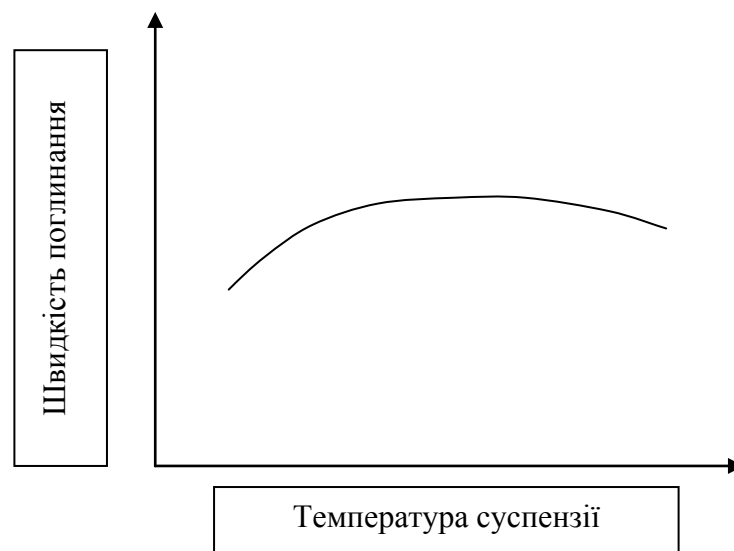


Рис.1.1. Температурна крива швидкості фотосинтезу мікроводоростей [31]

Зниження температури суспензії мікробіодоростей призводить до зменшення активності мікробіодоростей, вони можуть потрапити у так званий період сплячки. Натомість збільшення температури суспензії на 3-4 °С вище оптимального значення протягом декількох годин може призвести до повної загибелі клітин.

За температурною ознакою мікробіодорості поділяють на термофільні та мезофільні. Оптимальний параметр температури для мезофільних складає 28-30°C, для термофільних – вище 30°C. Як правило, продуктивність термофільних мікробіодоростей, до яких належить *Chlorella*, вище мезофільних.

### 1.2.3. Вплив концентрації вуглекислого газу на швидкість його засвоєння мікробіодоростями

На відміну від температурної, вуглеводнева крива швидкості фотосинтезу (рис.1.2) має ширше плато оптимальних значень концентрації вуглекислого газу.

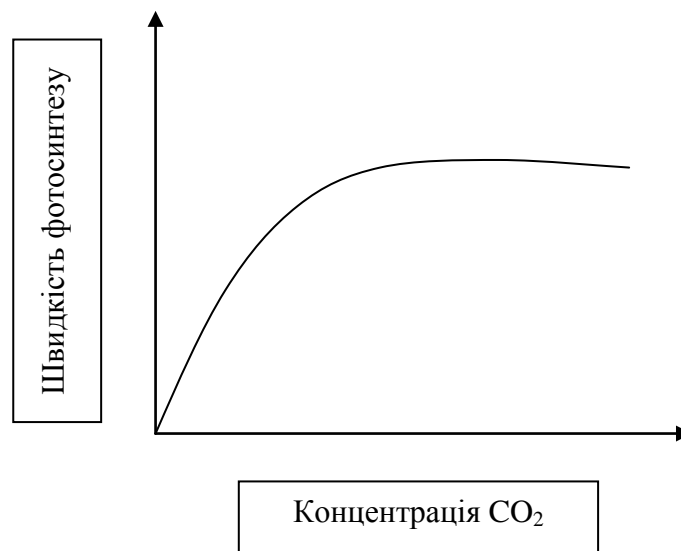


Рис.1.2 Вуглеводнева крива швидкості фотосинтезу мікробіодоростей [31]

Для багатьох культур мікробіодоростей збільшення вмісту  $\text{CO}_2$  в газовій суміші може призвести до загибелі культури та втрати фотосинтетичної активності клітин. Визначальним фактором є парціальний тиск розчиненого

вуглекислого газу в суспензії. Але значно зручніше контролювати вміст вуглекислого газу в повітряній суміші [54-56].

Споживання вуглекислого газу клітиною мікроводорості залежить від швидкості фотосинтезу і складає 0,9 - 1,1 л на 1 г сухої ваги синтезованої біомаси. Але при подачі до суспензії кількості вуглекислого газу, що дорівнює його споживанню, парціальний тиск цього газу в суспензії буде близьким до 0 і цей параметр стане лімітуючим. Певна кількість вуглекислого газу виноситься з суспензії потоком повітряної суміші і для забезпечення високої швидкості приросту мікроводоростей необхідно у 2 - 2,5 рази більше вуглекислого газу. При зниженні інтенсивності світлового спектру поглинання зменшується швидкість фотосинтезу мікроводоростей і концентрація вуглекислого газу потрібна для насичення зменшується.

Забезпечити необхідну кількість вуглекислого газу можна подаванням надмірної його кількості або ж на основі експериментальних досліджень швидкості фотосинтезу в залежності від продуктивності фотобіореактора. При цьому концентрацію слід підтримувати у межах плато вуглеводневої кривої фотосинтезу.

Застосування фотосинтетичних властивостей мікроводоростей в промисловості відбувається через наявність промислових газових викидів (димових газів) із високим вмістом вуглекислого газу, який необхідно утилізувати. Вуглекислий газ ( $\text{CO}_2$ ) присутній у димових газах у концентраціях від 3% до 25% в залежності від джерела палива [32,58]. Такий відсоток вмісту вуглекислого газу може служити основним джерелом живлення для культури мікроводоростей *Chlorella*.

Існують дані про інгібуючий вплив високих концентрацій вуглекислого газу на культуру мікроводоростей *Chlorella* яка була аерована димовими газами з концентрацією  $\text{CO}_2$ , більше ніж 25%. При аерації газом, що утворився завдяки 100% змішуванню  $\text{CO}_2$  з повітрям у порівнянні з димовими газами з коксової печі, з електростанції та металургійного заводу, максимальні показники

приросту біомаси спостерігались у зразках аерованих димовими газами ніж ті, які були отримані при аерації 25% суміші CO<sub>2</sub> [31, 57].

#### **1.2.4. Роль мінералізації середовища в процесах поглинання вуглекислого газу мікроводоростями**

Для нормального фототрофного росту мікроводоростей необхідні азот, калій, магній, фосфор, сірка, залізо і ряд мікроелементів. Через велику кількість видів мікроводоростей і їх походження стає неможливим застосування одного середовища культивування. Розроблена велика кількість середовищ, кожна з яких має велику кількість недоліків і переваг, в лабораторних умовах найчастіше використовують 4 типи (табл.1.1). Розчини, створені на основі Тамійя з нітратним чи аміачним азотом, застосовуються для вирощування одноклітинних мікроводоростей типу *Chlorella*. Кількості розчинених в 1л солей достатньо для вирощування 12-15 г сухої біомаси [59].

#### **1.2.5 Альтернативне поживне середовище для мікроводоростей**

На сьогоднішній день широкого застосування знайшли промислові способи культивування мікроводоростей з поглинання промислових газових викидів, які містять домішки інших оксидів окрім CO<sub>2</sub>, їхній склад залежить від типу виробництва де утворюється газоповітряна суміш. Так димові газы коксової печі містять сполуки сірки, зокрема SO<sub>2</sub> також можуть включати оксиди азоту. Ці домішки мають вплив на середовище культивування мікроводоростей в залежності від вмісту тих чи інших оксидів.

Культивування мікроводоростей промисловими газовими викидами без попереднього очищення від інгібуючих сполук знижує вартість попередньої обробки газів але в той час вимагає використання тих штамів мікроводоростей, які адаптуються до високого вмісту концентрацій цих домішок [33, 34].

Відомі дані про значну витривалість штаму мікрободоростей до вмісту оксидів  $\text{NO}_x$  і  $\text{SO}_2$  у димових газах [35]. Справа в тому, що мікрободорості можуть поглинати азот у вигляді  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}$  і  $\text{N}_2$ . Промислові газові викиди, що утворюються в процесі спалювання на виробництвах містять в собі 95%  $\text{NO}$  і 5%  $\text{NO}_2$ . На відміну від  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$  має в 6000 разів більшу розчинність у воді [36, 37]. При розчиненні будь якого оксиду  $\text{NO}_x$  у воді, утворюється азотна кислота ( $\text{HNO}_3$ ) або азотиста кислота ( $\text{HNO}_2$ ). Обидві ці кислоти можуть слугувати джерелом азоту для покращення росту мікрободоростей [38]. Таким чином вміст оксидів азоту в промислових газах можуть бути джерелом добрива, що покращує швидкість приросту біомаси мікрободоростей.

Існують дані про отримання високої швидкості приросту мікрободоростей в досліджуваному об'єкті пов'язане з присутністю оксидів  $\text{NO}_x$  та  $\text{SO}_2$  у промислових газах, які служили додатковим джерелом азоту й сірки для підтримки росту клітин мікрободоростей, проте не зазначено інгібуючого впливу діоксиду сульфуру на процес поглинання. Та задля уникнення вмісту критичних концентрацій цих оксидів у газах, що поглинаються, пропонується розбавлення промислових газових викидів повітрям, що дозволить використання мікрободоростей у якості знешкодження негативного впливу без попереднього знешкодження компонентів газової суміші [31].

У якості альтернативного середовища культивування мікрободоростей у літературі великої уваги надається сільськогосподарським та перомисловим стічним водам, завдяки яким можна забезпечити стабільний приріст біомаси мікрободоростей [39]. Завдяки здатності мікрободоростей зростати у замкнених середовищах, використання мікрободоростей для очищення промислових стоків є важливим підходом у екологічних енергозберігаючих технологіях [40]. Таким чином виникають вимоги до таких стічних вод через їх забруднення мікроорганізмами [41].

Саме тому сучасні дослідження спрямовано на культивацію ціанобактерій із використанням для їх живлення відпрацьованої біомаси анаеробного зброджування, так званий дігестат, а також відходів і стоків агропромислового

комплексу, у тому числі з метою очищення останніх. Після первинної очистки стічну воду можуть направляти на наступну ступінь очищення або використовувати як зворотну, а ліпіди, отримані шляхом екстракції отриманої біомаси ціанобактерій можна використовувати для виробництва біодизелю [42-45].

### 1.2.6 Роль лужно-кислотного балансу (рН) в процесах поглинання вуглекислого газу мікроводоростями

Показник рН є важливим параметром на зміну якого мають вплив домішок побічних оксидів, що містять промислові газові викиди. Існують літературні дані про гальмування процесу поглинання вуглекислого газу мікроводоростями під впливом рН розчину [10, 18]. Інгібуючу дію рН на ріст мікроводоростей можна пояснити переважно впливом діоксиду сульфуру в газовій суміші, що змінює значення показника через вивільнення  $H^+$  що відбувається через гідроліз  $SO_2$  і призводить до зниження рН розчину. Це зниження рН культури мікроводоростей спричинило зниження ефективності видалення  $CO_2$  та фіксації  $CO_2$  [19].

Також при підвищенні рН середовища більше 8 гідроксид амонію, що міститься в середовищі дисоціює на вільний аміак, що може призвести до сповільнення росту культури мікроводоростей [20].

Таблиця 1.1

#### Складники середовищ для культивування мікроводоростей

Середовище	Склад	Кількість, г/л
Тамійя	$KNO_3$	5,0
	$Mg SO_4 \cdot 7H_2O$	2,5
	$KH_2PO_4$	1,25
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,009
	ЕДТА	0,03
	Розчин мікроелементів	1 мл на 1 л середовища

## Продовження Таблиці 1.1

Заррука	$\text{Na HCO}_3$ $\text{K}_2\text{HPO}_4$ $\text{NaNO}_3$ $\text{K}_2\text{SO}_4$ $\text{NaCl}$ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{CaCl}_2$ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ЕДТА Розчин мікроелементів	6,8 0,5 2,5 1,0 1,0 0,2 0,04 0,009 0,08 1 мл на 1 л середовища
Артари (модифікована)	$\text{NaCl}$ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{KNO}_3$ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ЕДТА Розчин мікроелементів	116,0 50,0 5,0 1,25 0,009 0,037 1 мл на 1 л середовища
Броді- Емерсона	$\text{KCl}$ $\text{NaCl}$ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $\text{KBr}$ $\text{KJ}$ $\text{Fe} + \text{ЕДТА}$ Розчин мікроелементів	16,03 12,52 2,5 0,17 0,05 0,05 1,0 мл 5 мл на 1 л середовища
Розчин мікроелементів	$\text{H}_3\text{BO}_3$ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{MoO}_3$ $\text{NH}_4\text{VO}_3$	2,86 1,81 0,222 0,018 0,023

### **1.2.7. Роль світла в процесах поглинання вуглекислого газу мікроводоростями**

Енергія світла є одним з найважливіших параметрів фотосинтезу при культивуванні мікроводоростей. Вона має поступати у суспензію з необхідною інтенсивністю та питомою потужністю (кількість енергії на 1 л суспензії).

Вплив світлової хвилі на швидкість поглинання мікроводоростей залежить від багатьох фізичних факторів культивування. При температурі суспензії нижче оптимальної, рівень сонячної радіації може стати інгібуючим навіть для тих, що люблять світло. По мірі проникнення вглиб суспензії поглинання світла різних частот відбувається по різному і залежить від пігментного складу клітин. Очевидно, що максимальної фотосинтетичної активності суспензії мікроводоростей можна досягнути коли кожна клітина мікроводорості знаходиться в зоні світлового спектру, але це вимагає дуже тонких слоїв суспензії або низької густини культури.

Дослідження закономірностей світлорозподілу в суспензіях мікроводоростей засвідчують, що для забезпечення максимальної ефективності використання енергії штучного світла інтенсивність радіації не повинна перевищувати 10-120 Вт/м<sup>2</sup> для більшості термофільних форм мікроводоростей, зокрема *Chlorella*. Товщина шару суспензії в фотобіореакторі повинна складати близько 2-3 см при густині суспензії 3-5 г/л, питома інтенсивність світла 3-6 Вт/л.

При використанні штучних джерел освітлення часто використовується двостороннє освітлення, що дозволяє збільшити освітлювану поверхню фотобіореактора [2].

### **1.3. Обладнання, яке використовується для культивування мікроводоростей**

При культивуванні мікроводоростей з метою поглинання вуглекислого газу



застосовують типове обладнання мікробіологічних виробництв. Найчастіше це склянні колони, які піддаються штучному освітленню, з механічними чи пневматичними аераторами.

### **1.3.1. Напівпромислове устаткування**

Для культивування мікроводоростей штаму *Chlorella vulgaris* у лабораторних умовах застосовують прості установки з барботуванням балонним вуглекислим газом, освітлення використовують природнє або штучне у нічний час. При цьому не вимагається суворого дотримання стерильності, так як хлорела придушує розвиток мікрофлори. Дотримується монокультури штаму задля уникнення розвитку в ній інших видів водоростей, які можуть бути небажаними для використання в корм тваринам. Адже *Chlorella* застосовується в сільськогосподарстві, де займаються тваринництвом, кролівництвом, хутровим звіринництвом, бджільництвом. Такі установки для напівпромислового культивування мають переваги через простоту устаткування і дешевизну. Вони спонукають до ефективного вирощування тварин [21, 22].

### **1.3.2. Промислове устаткування**

Культивування *Chlorella* на виробництвах відбувається в спеціальних ємностях, так званих біореакторах, у яких створюється необхідний температурний режим, підведення і відведення газових потоків, підведення рідини, та контроль за умовами у біореакторі, тому числі і живильним середовищем.

Фотобіореактором називається апарат, у якому здійснюють культивування мікроорганізмів за допомогою фотосинтезу за участі фотосинтезуючих мікроорганізмів. Розрізняють фотобіореактори закритого та відкритого типу. Відкриті фотобіореактори мають простішу будову через відсутність додаткової

аерації і перемішування. Дані умови є неконтрольовані і продуктивність її значно менша ніж у контрольованих фотобіореакторах закритого типу.

Існує декілька режимів роботи фотобіореактора:

- накопичення (один виробничий цикл);
- накопичення з підживленням;
- безперервне культивування.

Для підтримання оптимальних умов культивування мікробіодоростей у фотобіореакторі необхідно враховувати та контролювати вплив наступних параметрів, таких як температурний режим середовища, його рН, окисно-відновний потенціалу, концентрацію розчиненого кисню, присутність поживних речовин та вуглекислоти, інтенсивність перемішування та швидкість руху рідини. Також вагомим фактором є забезпечення мікробіодоростей світлом, які враховуються при конструюванні фотобіореакторів.

Приклад типового цеху для культивування *Chlorella* представлено на рис.1.3. Цех складає у собі комплекс приміщень, що мають вигляд теплиці, куди входить лабораторія, склад для хімікатів, зокрема балонів з діоксидом вуглецю, приміщення для приготування розчинів та безпосередньо культивування.



Рис.1.3 Типовий цех для вирощування хлорели у промисловості

Продуктивність таких цехів з вирощуванням хлорели протягом цілого року складає до 40т суспензії на добу. Виробничий процес складається з підготовки поживного середовища для культивування, приготування інокулянта, підготовка газової суміші для культивування, процес утворення біомаси мікрободоростей, відділення готової біомаси як готової продукції та останній етап, промивання та дезінфекції обладнання. [21].

### **1.3.3 Світовий досвід культивування мікрободоростей в промислових умовах**

Як було згадано вище, перші згадки про культивування одноклітинної хлорофілвмісної мікрободорості типу *Chlorella* належать М. Беєрінку (Beijerinck), 1890р. О. Варбург на початку ХХ століття займався її лабораторним культивуванням [86].

Початок промислового культивування мікрободоростей належить до 1960-х років. В Японії почали культивувати *Chlorella vulgaris*. У 1970-х роках компанія Sosa Техсосо S.A. запровадила виробництво *Spirulina* у Мексиці. У 1977 р. було створено завод для культивування *Spirulina* у Тайланді. Так, до 1980 р. загалом в Азії було налагоджено виробництво близько 1000 кг мікрободоростей на місяць, більший відсоток з яких припадав на тип *Chlorella vulgaris*. Станом на 1996 рік Японія постачала біля 2000 т хлорели на світовий ринок. Також виробництво мікрободоростей було запроваджено у США, зокрема у Каліфорнії - Microbio та на Гаваях - Cyanotech.

Маючи 160-ти річний досвід роботи у сфері управління водними ресурсами і відходами французька комунальна компанія Suez SA підтримала інноваційні можливості використання біоресурсів, зокрема прісноводних мікрободоростей для очищення міського повітря Парижу від вуглекислого газу. Прикладом циклічності використання природних ресурсів послужила колона Моріса розроблена французькою компанією Fermentalg і представлена в кінці 2015 року.

Розробники зберегли дизайн традиційної колони, натомість центральне тіло колони заповнене водою, що містить культуру мікрободоростей. Робота колони заснована на принципі фотосинтезу. Прозоре скло дозволяє поглинати необхідну кількість світла для цього та вуглекислий газ одержується з навколишнього середовища.

Поглинання відбувається у чотири етапи. Першим етапом є фільтрація забрудненого повітря через колону з мікрободоростями та вловленням як вуглекислого газу, так і інших забруднюючих речовин в атмосфері. На другому етапі утворена біомаса періодично відводиться через каналізаційну мережу на очисні споруди. На станції ця біомаса може бути вперетворена в біометан і на четвертому етапі може використовуватися для постачання міською газовою мережею.

Дану колону було встановлено у центрі Парижу у травні 2017 р. у районі із найбільшою забрудненістю повітря. Основними завданнями даного проекту є: у короткий період зменшити забруднення повітря і покращити здоров'я населення, водночас підвищуючи свідомість населення про глобальне потепління і забрудненості повітря; обмежити викиди парникових газів і боротися з глобальним потеплінням [24].



Рис.1.4. Колонна Моріса з культурою мікрободоростей

Аналогічний досвід використання мікродоростей у альтернативній енергетиці вже було випробувано в Женеві у Швейцарії компанією Cloud Collective. Рампа мосту Бутина була модифікована під фотобіореактори з мікродоростями у поєднанні з сонячними батареями.



Рис.1.5. Фотобіореактор мосту Бутина у Женеві

Трубки у декілька десятків метрів заповнені суспензією мікродоростей для очищення повітря від вуглекислого газу аналогічним чином як і у колоні Моріса за виключенням того що джерело живлення конструкції забезпечується сонячними батареями. Завдяки ним установка також використовується для виробництва енергії. Після вилучення біомаси мікродоростей вони використовуються для виробництва біопалива а також біомаси. Автором цього проекту є французько-голандська компанія The Cloud Collective.

Завдяки таким проектам стає очевидним та виправданим використання будь якого урбаністичного елементу у якості фотобіореактора.

У Гамбурзі, Німеччина, мікродорості були частиною ландшафту з 2013 року, коли у місті було побудовано будівлю з фасадом з мікродоростей. Цей



проект зробив великий крок у розвитку альтернативної енергетики завдяки своїй іновачії – віконницям, у яких вирощувалися мікродорості для виробництва енергії.



Рис 1.6. Будівля з фасадом з мікродоростей

Ці фотобіореактори мають форму великих плоских прозорих панелей, завдяки чому було досягнуто більш сприятливих умов для розмноження мікродоростей. Завдяки процесу фотосинтезу очищується повітря та тепло, що уворюється завдяки нагріванню панелей використовується для постачання будинку. Дана система з використанням мікродоростей забезпечує хороший енергетичний баланс будівлі. Крім того, панелі також використовуються для затемнення у літній період, що дозволяє заощадити на системі кондиціонування. У Франції така система була побудована на фасаді будівлі в м. Нант у кінці 2013 року [25].

Своє застосування фотобіореакторні установки знайшли у проекті компанії RLUG, яка розробила систему поглинання вуглекислого газу за участі морських водоростей. Клиноподібні пластмасові шланги розташовані у два ряди на розподільчих решітках містять суспензію мікродоростей темно-зеленого кольору. Установка представлена на рис.1.7 [1].



Рис.1.7. Фотобіореакторна установка компанії RLUG [1]

У МДУ в 1980 році створена експериментальна установка для культивування мікробіодоростей з подальшим перетворенням її у метан. У фотосинтетичному блоці бісолярної установки площею 30 м<sup>2</sup> здійснюється культивування хлорели для одержання біомаси. В подальшому, відділену від рідини біомасу мікробіодоростей подають у камеру бродіння, де методом анаеробного збродження відбувається ферментація біомаси з подальшим утворенням біогазу із складом: на 80% метан, на 16% діоксид вуглецю і на 2% водень. Конструкція технологічної схеми дозволяє додатковий підвід вуглекислого газу у вигляді повітря у фотобіореактори, також можливе використання чистого діоксиду вуглецю, який входить в біогаз, з метою підвищення КПД фотосинтезу в фотобіореакторах. Відомі висновки про потенційні можливості даної технологічної установки, які полягають у одержанні 1 млн. т біопалива за необхідності лише 1,5 тис. т біогенних елементів (перш за все N, P, K та ін). Схематичне зображення установки представлено на рис.1.8.

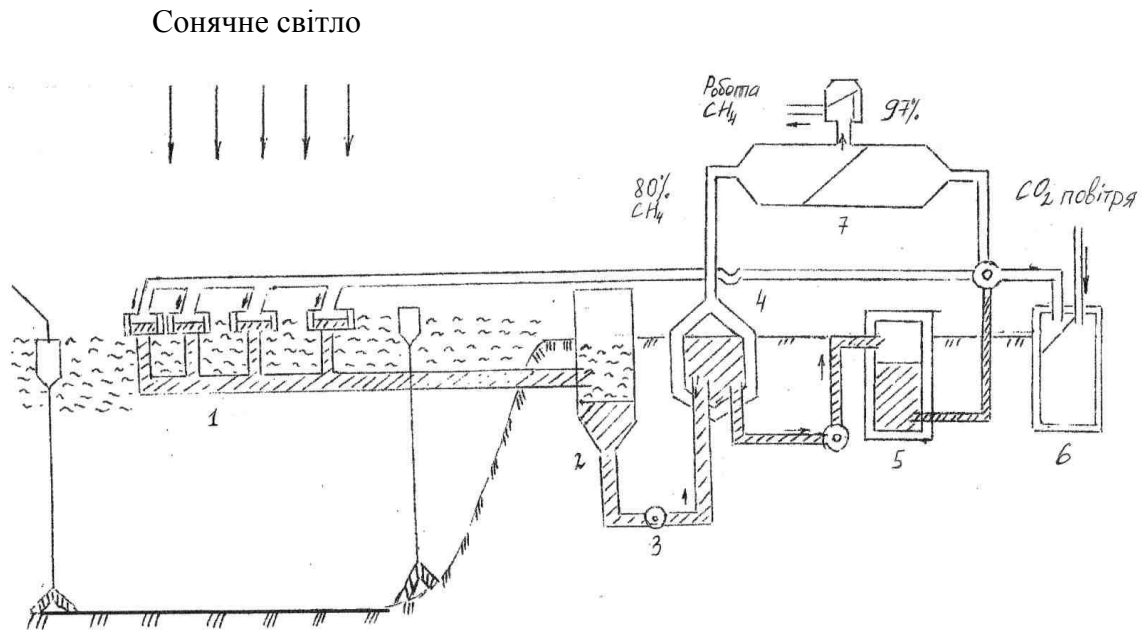


Рис.1.8. Бісолярна установка [144]

1 – фотосинтетичний блок, що плаває в поживному середовищі, 2 – резервуар для відділення біомаси від живильного середовища, 3 – декомпресор, 4 – біометанізатор (або апарат для анаеробного зброджування), 5 – регенератор, 6 – концентратор діоксиду вуглецю, 7 – сепаратор.

#### 1.4. Способи переробки біомаси мікрободоростей

У цілому ситуація з використання різних видів біомаси у світі є різноплановою. Існує багато напрямків поводження з біомасою після біологічного очищення, зокрема мікрободоростями.

Відомий, так званий термін: «біопаливо третього покоління» – це нова технологія переробки біомаси мікрободоростей з отриманням біопалива. Біомасу, шляхом анаеробного зброджування, переробляють у газ метан або ж отримують етанол, технологією бродіння. Цінність їх також полягає у можливості їх використання при виробництві біодизельного палива. З біомаси мікрободоростей



можна отримати у рази більше палива, у порівнянні з іншою сировиною, на зразок пальмової олії (у 3,5 рази більше), цукрової тростини (у 5 разів більше), кукурудзи (у 8 разів більше), і сої (в 40 разів більше).

#### **1.4.1. Анаеробна біометанізація з одержанням газу метану**

Отриману масу мікробіодоростей можна переробляти у газ метан методом анаеробного збродження.

До теперішнього часу в світі є лише кілька реалізованих проєктів введених в експлуатацію установок отримання метану з водоростей. Перші результати дозволяють сподіватися на серйозний прорив у цьому напрямку.

Одна з технологій, що швидко розвиваються сьогодні в сфері виробництва енергії з відновлюваних джерел - це виробництво біометану анаеробною ферментацією з подальшою подачею його в мережі, по яких споживачам доставляється природний газ.

Біометан за класичною і застосовуваною зараз скрізь схемою отримують з рослинних субстратів (наприклад, кукурудзи), гнойової рідини свинокомплексів, гною великої рогатої худоби, курячого посліду тощо. Такий метан з біомаси може бути отриманий шляхом її анаеробного перегнивання (ферментації). При анаеробному перегниванні органічні речовини (природні відходи) розкладаються за відсутності повітря, рис 1.9.

Процес є трьохстадійним. Перша стадія супроводжується перетворенням складних органічних сполук у прості (жирні кислоти, протеїни, вуглеводи).

Друга стадія супроводжується перетворенням цих простих сполук під дією анаеробних (кислото утворюючих) бактерій на леткі жирні кислоти.

Третя стадія супроводжується перетворенням органічних кислот під дією анаеробних (метаноутворюючих) бактерій на вуглекислий газ і метан. Після цієї стадії отримується збагачений метаном газ (біогаз), теплота згоряння якого 5340-6230 кКал/м<sup>3</sup> [1].

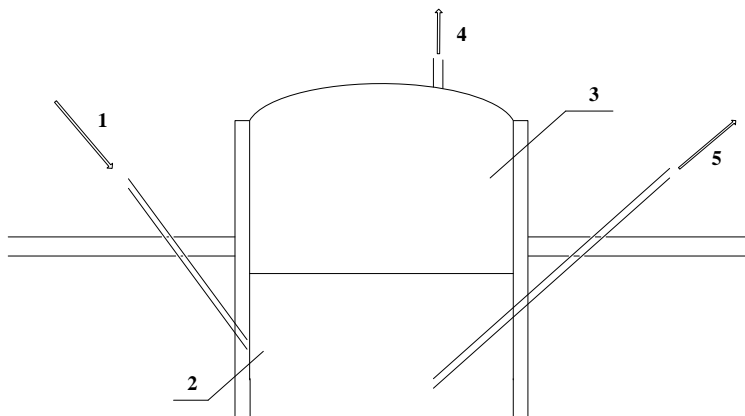


Рис. 1.9. Принципова схема анаеробної установки

1– приймальний пристрій; 2– біореактор (метантенк); 3 – середовище для збирання біогазу; 4 – патрубок, з'єднуючий метантенк з газгольдером; 5– пристрій для відкачування шламу з метантенку

Іншим способом переробки біомаси мікробіодоростей може бути використана для виробництва різних видів біопалива шляхом піролізу, термічного чи хімічного зрідження [81].

В літературі мало міститься інформації щодо використання мікробіодоростей *Chlorella* в природоохоронних технологіях і не міститься матеріалу щодо використання мікробіодоростей в технологіях очищення газових викидів. Тому завданням роботи є дослідження процесу поглинання парникових газів хлорофілвмісними мікробіодоростями, серед яких вуглекислий газ є найважливішим.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

- встановити механізм транспорту вуглекислого газу та інших парникових газів із газової фази у внутрішній об'єм клітини хлорофілвмісних мікробіодоростей.
- дослідити вплив концентрації вуглекислого газу, температури та довжини світлової хвилі концентрації оксидів  $\text{SO}_2$  і  $\text{N}_x\text{O}_y$  на приріст біомаси мікробіодоростей;
- встановити вид інгібування діоксидом сульфуру процесів поглинання парникових газів мікробіодоростями;

- визначити граничну концентрацію впливу активаторів на процеси поглинання парникових газів;
- розробити математичні моделі досліджуваних процесів та отримати їх рішення.
- узагальнити результати досліджень та розробити основи технологічних процесів очищення промислових газових викидів від парникових газів хлорофілвмісними мікроводоростями *Chlorella*, з подальшою біометанізацією отриманої біомаси мікроводоростей.

### **ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1**

1. Проведено аналіз літературних джерел та представлено загальну характеристику мікроводоростей *Chlorella*.
2. Розглянуто класифікацію та будову інших видів хлорофілвмісних мікроводоростей.
3. На основі літературного аналізу вивчено умови культивування мікроводоростей *Chlorella* в залежності від температури суспензії, вмісту вуглекислого газу, мінералізації та лужно-кислотного балансу середовища і виду спектру освітлення.
4. Представлене основне обладнання, яке використовується для культивування мікроводоростей.
5. Описаний світовий досвід культивування мікроводоростей в промислових умовах.

## РОЗДІЛ 2

### МЕТОДИКИ ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У розділі описано методики та розглянуті використані методи експериментальних досліджень, що використовували для досягнення поставленої мети дисертаційного дослідження.

При виконанні роботи культура хлорофілвмісних водоростей мікроводоростей *Chlorella* підлягала експериментальному дослідженню. Для цього розчин мікроводоростей *Chlorella vulgaris* вносили в середовище культивування та визначали приріст мікроводоростей в фотобіореакторах за відомими фізико-хімічними методами аналізу.

У розділі представлена апаратура, яка використовувалась під час дослідження та представлені основні умови та фактори впливу за яких проводилися дослідження. Представлені основні технічні характеристики об'єкту поглинання парникових газів.

#### **2.1 Характеристика об'єкту поглинання парникових газів**

Хлорела – це одноклітинні хлорофілвмісні зелені мікроводорості, мають розміри в діаметрі від 2 до 10 мкм [82].

Мікроводорості *Chlorella* активно накопичують вуглеводні, що лягає в основу їх використання у промисловості для знешкодження вуглекислого газу [3].

В порівнянні з квітковими рослинами, хлорела використовує 25 - 30% сонячної енергії, на противагу 7-13% [82, 84].

Як було згадано раніше, мікроводорості, поглинають у 7-10 разів більше вуглекислого газу у порівнянні з наземними рослинами, за однаковий проміжок часу та адаптуються у край несприятливих умовах. Швидкість росту мікроводоростей значно більша порівняно з швидкоростучими енергетичними культурами, на кшталт верболозу або тополі, які виробляють 12 т/(гар) з платнацій, або міскантусу, який виробляє 15т/(гар) сухої речовини [3, 81, 82].

Також мікродорості здатні зростати в закритих системах на відміну від наземних рослин, та зберігають при цьому усі необхідні фотосинтетичні властивості. Такі властивості мікродоростей забезпечують зв'язування великих кількостей вуглекислого газу, що є об'єктивною умовою використання їх для очищення промислових газових викидів від вуглекислого газу включаючи його у схеми фотосинтезу.

## **2.2. Методика фотоколориметричного визначення вмісту мікродоростей в одиниці об'єму середовища культивування**

Фотоколориметричний метод базується на кількісному визначенні речовин на підставі вимірів інтенсивності світлопоглинання у певній області спектру відповідно до оптичного закону Бугера-Ламберта-Бера. Фотоколориметрія характеризується вимірюванням поглинання світлової енергії розчинів приготованих з аналізованими речовинами. За записом спектру поглинання можна оцінити ознаки речовини, що аналізують, а величина поглинання дозволяє стверджувати про вміст компоненту, що досліджується. Фотоелемент вловлює інтенсивність світла, що падає на нього, а сила струму прямо пропорційна їй. Вміст мікродоростей в одиниці об'єму середовища культивування (концентрація), у нашому випадку, пропорційний поглинанню світлової енергії мікродоростями [84].

Прилади, які вимірюють ступінь поглинання світла середовищем, що фотометрують, називаються фотоколориметри [89, 110]. Зовнішній вигляд фотоколориметра представлений на рис 2.1.

Вимірювання оптичної густини проводять порівнюючи стандартний і досліджуваний розчини з контрольним, або нульовим [88,89,97].

Для забезпечення максимальної точності і чутливості вимірювання проводилися з використанням синього світлофільтру і в кюветі з товщиною шару рідини 10 мл. У якості контрольного розчину використовували воду.



Рис. 2.1 – Фотоелектроколориметр ФЕК – 56 [23]

При проведенні серійних фотоколориметричних аналізів однотипних середовищ, використовується метод калібрувального графіка. Згідно закону Бугера - Ламберта – Бера, графічна залежність в координатах оптична густина - концентрація повинен бути лінійною і графік має виходити з початку координат. Теоретично достатньо і однієї крапки для побудови даного графіка. Однак калібрувальний графік зазвичай будують за чотирма крапками, тобто за чотирма стандартними розчинами, що підвищує точність побудови графіка і надійність визначень [89-91].

Для визначення вмісту мікродоростей методом калібрувального графіка готують серію з 4 стандартних середовищ з наперед відомим вмістом хлорофілвмісних мікродоростей [90,97].

Наступним етапом є вимірювання оптичної густини стандартних середовищ з відомим вмістом хлорофілвмісних мікродоростей і побудова графіку залежності оптичної густини,  $A$  від концентрації мікродоростей,  $C$ . Лінію яку отримують, називають каліброваною прямою, вона має дійсно вигляд прямої, що виходить від початку координат. Після визначення оптичної густини середовища,

яке досліджується  $A_x$ , відповідне значення наносять на вісь ординат, а на вісь абсцис - відповідне їй значення концентрації, досліджуваного середовища  $C_x$  [112].

Для визначення вмісту мікроводоростей згідно методу калібрувального графіка, знаходили масу мікроводоростей, що містилась в об'ємі фотобіореактора на початку досліджу. Для цього використовували гравіметричний метод аналізу. Фільтр з цупкого фільтрувального паперу із синьою стрічкою, попередньо висушували до постійної маси у сушильній шафі та охолоджували в ексикаторі, тоді фільтрували крізь нього суспензію мікроводоростей. Відпрацьований фільтр поміщали у сушильну шафу на період близько 30 хвилин за температури 100-105°C. Охолоджували в ексикаторі та зважувалих [86].

За формулою 2.1 знаходили значення вмісту мікроводоростей, за якими будували калібрувальний графік.

Вміст мікроводоростей в розчині з суспензією *Chlorella*:

$$C = \frac{m_1 - m_2}{V} \quad (2.1)$$

де:  $m_1$  - вага фільтру до фільтрування, мг;

$m_2$  - після фільтру фільтрування, мг;

$V$  - об'єм фільтрату [85].

Для побудови калібрувального графіка залежності оптичної густини від вмісту мікроводоростей ми готували 4 еталонних розчини з різним вмістом мікроводоростей, яку наперед було задано: 0,3 мг/мл, 0,6 мг/мл, 0,9 мг/мл, 1,2 мг/мл. Для даних розчинів побудували калібрувальний графік в координатах оптична густина – вміст мікроводоростей  $D=f(C)$  [104].

Користуючись побудованим калібрувальним графіком (рис.2.2), в подальшому, визначали невідому концентрацію колоній хлорофілвмісних мікроводоростей в досліджуваних середовищах. Для цього в кювету, для якої був побудований калібрувальний графік, включивши той самий світлофільтр, визначали оптичну густину. Далі за рівнянням (2.1) та користуючись

калібрувальним графіком знаходять вміст мікроводоростей в досліджуваних середовищах.

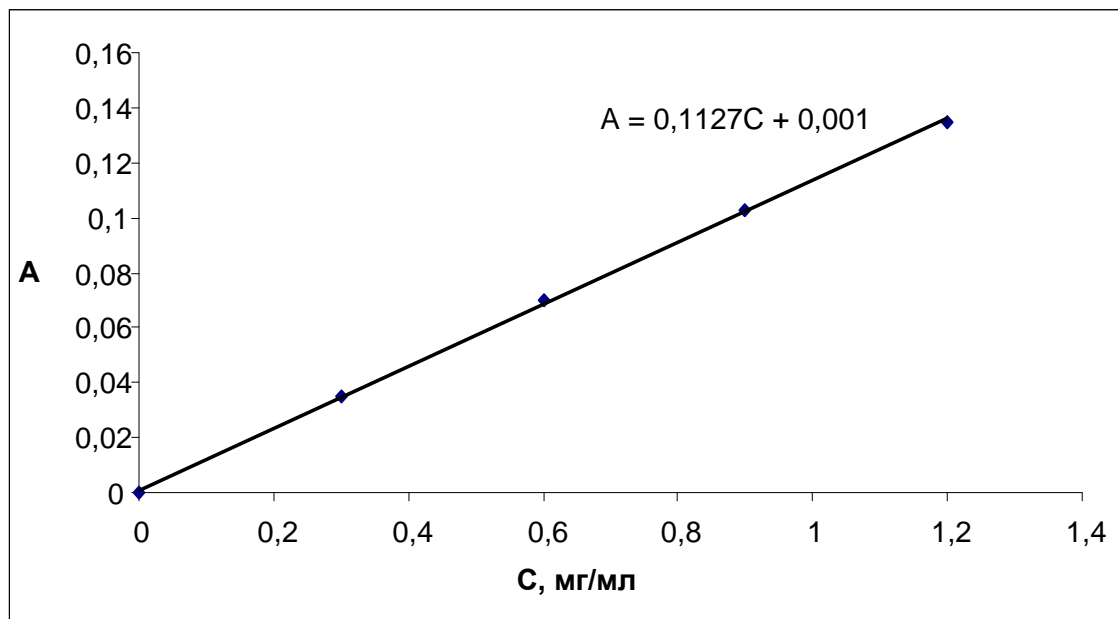


Рис. 2.2. Калібрувальний графік визначення вмісту мікроводоростей

Пропорційність концентрації мікроводоростей до оптичної густини підтверджується калібрувальним графіком, а тому отримані експериментальні дані приросту біомаси мікроводоростей у відповідний проміжок в межах досліджуваних довжин світлової хвилі відповідали значенням оптичних густин.

Фотометричні вимірювання проводять з урахуванням наступних умов:

- кювети мають бути чистими, та їх зовнішні стінки прозорими і сухими; до робочої поверхні кювет не слід доторкатись пальцями, зокрема поверхні рівня розчину; перед проведенням дослідження кювету необхідно ополіскувати невеликою кількістю досліджуваного розчину;
- кювети слід заповнювати до мітки, тобто до рівня, при якому увесь потік випромінювання проходить крізь шар середовища;
- встановлювати кювети у кюветну камеру пристрою необхідно завжди в однакове місце, щоб уникнути розсіювання або віддзеркалювання світла;



- вимірювання оптичної густини слід проводити лише із щільно закритою кришкою кюветної камери;

- вибір товщини кювети має відбуватись таким чином, щоб значення оптичної густини, що вимірюють потрапляло в інтервал 0,1-1,0 [92,112].

### **2.3. Методологія запису спектру поглинання водного розчину мікроводоростей**

Спектрофотометричний метод визначення полягає у вимірюванні світлопоглинання компонентів розчину під дією певних реагентів. В залежності від довжини хвилі випромінювання вимірювання проводять у видимій області спектру, ультрафіолетовій та інфрачервоній [93,94].

При кількісному спектрофотометричному визаченні вимірювання інтенсивності світлопоглинання застосовують при фіксованій довжині хвилі, на відміну від фотоколориметрії. При кількісному спектрофотометричному дослідженні для вимірювання інтенсивності світлопоглинання використовують обмежену смугу випромінювання. Основний закон світлопоглинання або закон Бугера-Ламберта-Бера лежить також в основі аналізу спектрофотометричного виначення [91, 94].

Вимірювання поглинання світла здійснюються за допомогою пристроїв спектрофотометрів, в яких створюється монохроматичний потік світла, який утворюється за допомогою монохроматора [95].

Поглинання в ультрафіолетовій (УФ) і видимій областях спектра пов'язано в основному з порушенням електронів.

Поглинання світла в інфрачервоній (ІК) області спектра обумовлено молекулярними коливаннями [96,100].

Як було згадано раніше, вимірювання проводять у видимій області спектра, ультрафіолетовій та інфрачервоній в залежності від довжин хвиль, при яких вимірюють світлопоглинання середовищ.

Таким чином, спектрофотометрію у видимій області спектра проводять при довжинах хвиль 400-760 нм, спектрофотометрію в ультрафіолетовій області спектра проводять у діапазоні довжин хвиль 200-400 нм, спектрофотометрію в інфрачервоній області спектра проводять при довжинах хвиль 760-20000нм [112].

Правила вибору довжини світлової хвилі:

1. Вибрана довжина світлової хвилі повинна співпадати з максимумом світлопоглинання забарвленої аналізованої речовини.

2. Якщо наявні декілька значень довжин світлових хвиль, і при них спостерігаються ідентичні значення різниці оптичних густин між досліджуваним та етлонним розчинами обирають довжину хвилі, за якої буде мінімальне значення оптичної густини етлонного розчину.

3. Максимум пропускання світлофільтра повинен співпадати з максимумом поглинання досліджуваної речовини.

4. В присутності аналізованої речовини в декількох формах в досліджуваній системі, і якщо спектри цих речовин перетинаються в одній точці, яка називається ізобестичною, вимірювання проводять саме при ній [98].

Абсорбційний спектр або спектр поглинання - це графічне зображення кількості поглиненого речовиною світла за певних значень довжин хвиль [99] .

При ультрафіолетовій спектроскопії, для побудови кривої поглинання, величини довжин світлових хвиль наносять на вісь абсцис а величину погашення - на вісь ординат .

У випадку інфрачервоної спектроскопії - це хвильові числа, їх також наносять на вісь абсцис, а відсотки пропускання - на вісь ординат [101].

Максимуми та мінімуми поглинання світла речовиною та оптична густина (D) (інтенсивність поглянання) при певних довжинах хвиль є характеристикою спектра поглинання [102].

Ультрафіолетове спектрофотометричне вимірювання проводять зазвичай в розчинах. У якості розчинника використовують воду. Розчинник і розчин, що досліджують не повинні поглинати світло в одній області спектра. Спектр може

змінюватися при зміні рН середовища і в різних розчинниках може бути різним [102].

### 2.3.1 Методика запису спектру у видимій області

Механізми взаємодії речовини з різними видами енергії, зокрема з променистою, ґрунтуються на різноманітних переходах атомів із одного енергетичного стану в інший. На молекулярному рівні картина цих переходів суттєво ускладнюється, що відбивається на вигляді спектрів. Поширеним представленням спектра поглинання є графік  $D = f(\lambda)$ : значення  $D$  і  $\lambda$  безпосередньо отримують з показів спектрального приладу.

Принцип дії приладів для молекулярно-абсорбційного спектрального аналізу ґрунтується на порівнянні двох потоків випромінювання: потоку  $I_0$ , яким опромінують пробу, і потоку  $I_1$ , який пройшов через досліджуваний матеріал.

Незалежно від певних особливостей у схемах і конструкціях, усі фотометричні прилади складаються із джерела випромінювання, монохроматизатора, кювет з розчинами, реєстратора і допоміжних вузлів (системи створення паралельного пучка, зміни напрямку потоку тощо).

Взаємне розташування усіх частин спектрофотометра подано на рис. 2.3. В основі роботи спектрофотометра лежить двопроменевий метод вимірів. Вимірювання здійснюють за допомогою двох пучкового випромінювання досліджуваного зразка та еталонного або зразка порівняння. Перед тим як потрапити на термоелемент, потоки світла проходять через модулятор та монохроматор. Термострум, що утворився за допомогою потоків підсилюється та перетворюється у цифровий код. Цей термострум є пропорційний коефіцієнту пропускання. Утворений цифровий код поступає до електронно-обчислювальної машини (ЕОМ), де відбувається обробка цифрового сигналу і вираховується коефіцієнт пропускання.

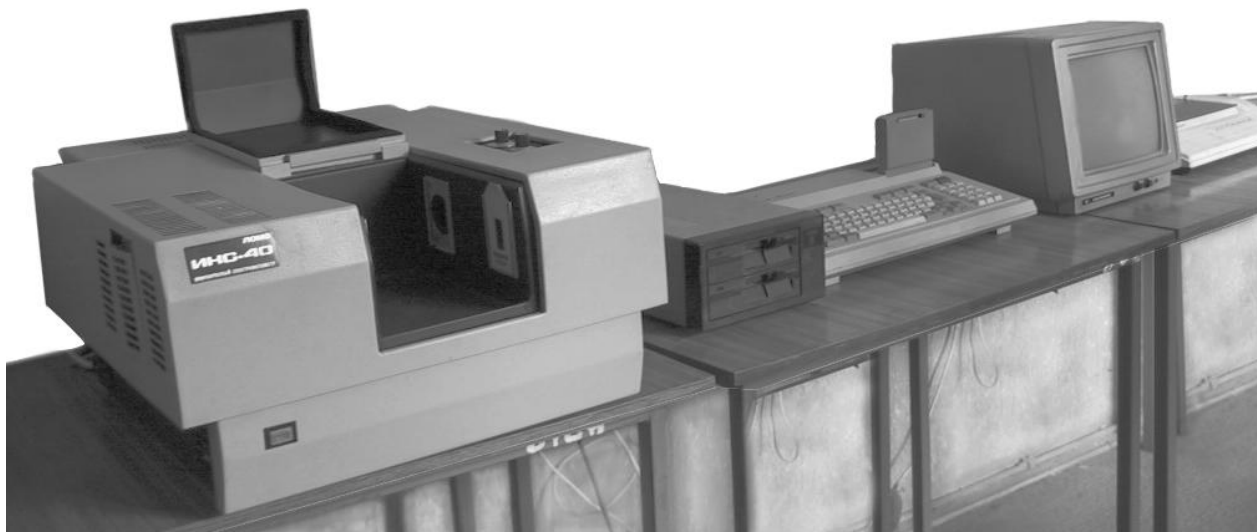


Рис 2.3. Зовнішній вигляд спектрофотометра

Колір поглинаючого розчину є доповнюючим до кольору абсорбованого випромінювання. Наприклад, розчин, який поглинає жовто-зелену частину спектра, сприймається оком забарвленим у фіолетовий колір (суміш жовто-зеленого та фіолетового кольору дає біле світло). Колір розчину та інтенсивність його забарвлення засвідчують поглинальну здатність розчину і, отже, дають змогу оцінювати кількісно та якісно структуру та склад розчину.

Спектри поглинання у видимій і УФ-областях є унікальні і корисним джерелом доповнюючих доказів при встановленні структури сполуки. Існує низка кореляцій між довжиною хвилі у максимумі поглинання і структурою речовини. Здатність комплексів металів з органічними лігандами вибірково поглинати випромінювання у видимій та УФ-областях використовують для визначення співвідношення ліганд/метал у комплексній сполуці. Здійснюють це методами молярних відношень та ізомолярних серій [99, 102].

#### **2.4. Методика визначення приросту біомаси мікробіодоростей в залежності від температури**

Визначення концентрації біомаси мікробіодоростей проводили фотоколориметричним методом.

Культуру зелених мікробіодоростей *Chlorella* культивували за різних температур при природньому освітленні протягом 14 діб у трьох фотобіореакторах об'ємом 1,5 дм<sup>3</sup>. За принципом водяної бані у трьох фотобіореакторах були створені оптимальні температурні умови для дослідження. У першому температура складала 20°C, у другому - 25°C і 36°C у третьому. Для експерименту використовували базове живильне середовище, у яке вводили рівну кількість розчину із культурою мікробіодоростей *Chlorella*. Водорості отримували однакою кількістю природного освітлення. У всіх трьох зразках подавали однакою кількістю вуглекислого газу, який барботували з повітря. рН середовища складала 6,5. Підтримували заданий температурний режим для кожного фотобіореактора протягом 14 діб. Відбір проб для дослідження із суспензії біомаси мікробіодоростей здійснювали щоденно. Схематично експериментальна установка поглинання вуглекислого газу мікробіодоростями в залежності від температури зображена на рис. 2.4.

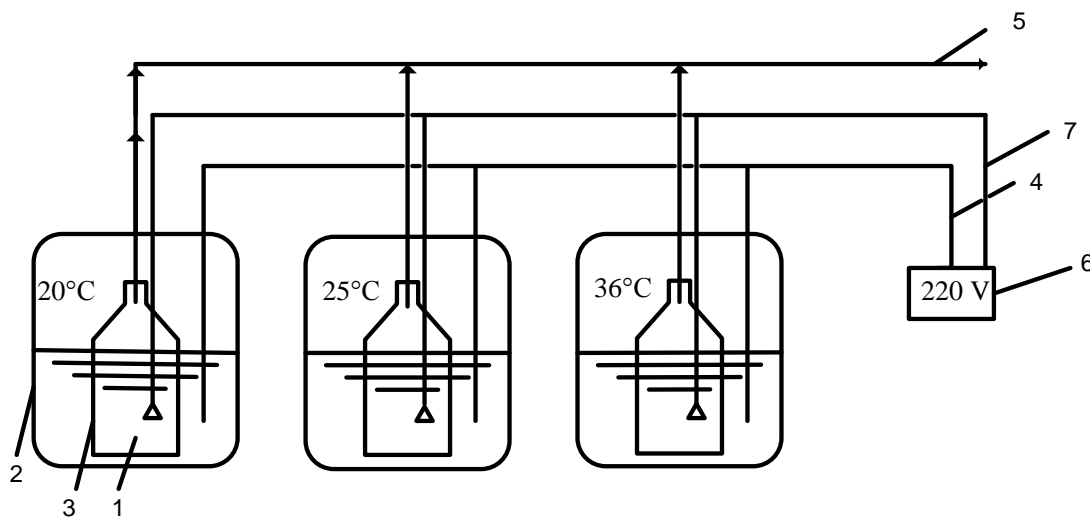


Рис.2.4. Схема експериментальна установка дослідження процесу поглинання вуглекислого газу CO<sub>2</sub> мікробіодоростями в залежності від температури

1 – культура мікробіодоростей *Chlorella*; 2 – водяна баня; 3 – фотобіореактор; 4 – термостати; 5 – повітря; 6 – розетки; 7 – барботуючий пристрій

## **2.5. Методика визначення приросту біомаси в залежності від довжини світлової хвилі**

Для визначення приросту біомаси в залежності від впливу освітлення різного спектру випромінювання, культуру зелених мікроводоростей *Chlorella* культивували протягом 14 діб у чотирьох фотобіореакторах з об'ємом 1,5 дм<sup>3</sup>. У першому фотобіореакторі було створено умови для надходження лише синього кольору світла, у другому – зеленого, у третьому – жовтого, у четвертому – червоного.

Для експерименту використовували базове живильне середовище, у яке вводили рівну кількість суспензії із культурою мікроводоростей *Chlorella vulgaris*.

Водорості отримували однакову кількість заданого спектру світла для кожного фотобіореактора. У всі чотири фотобіореактори подавали однакову кількість вуглекислого газу, який барботували з повітрям. рН середовища складала 6,5, температура культивування становила 25±1°C. Відбір проб для дослідження із суспензії біомаси мікроводоростей здійснювали щоденно. Визначення концентрації біомаси мікроводоростей проводили фотоколориметричним методом. Схема експериментальної установки зображено на рисунку 2.5.

Для забезпечення максимальної точності і чутливості вимірювання проводилися при синьому світлофільтрі при довжині хвилі 420 нм в кюветі з товщиною шару 10 мл. Як розчин порівняння використовували воду.

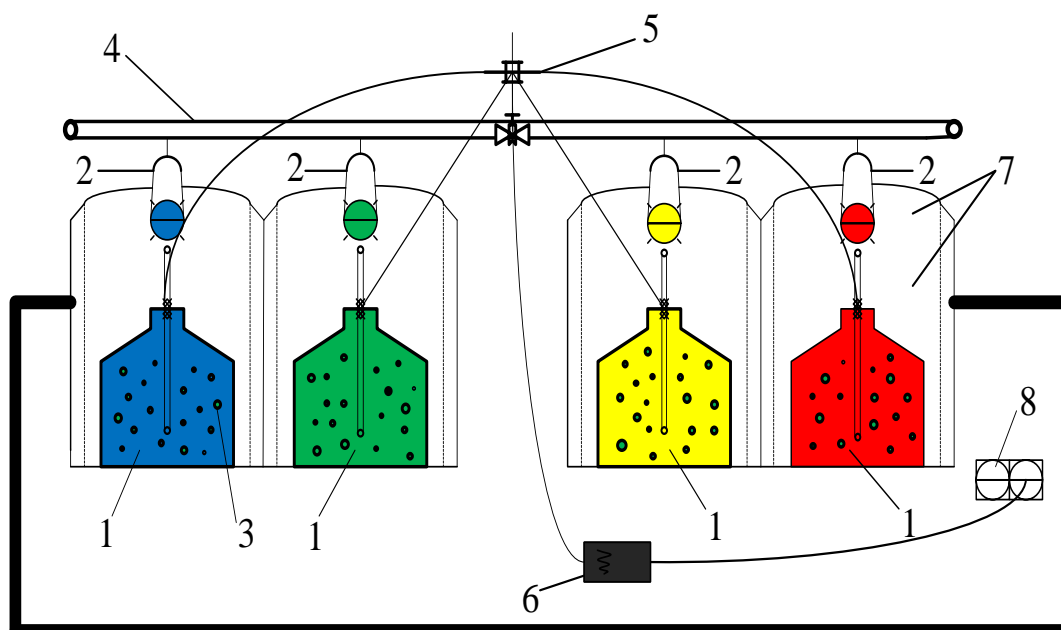


Рис. 2.5. Схема експериментальної установки для культивування мікробіодоростей за різного спектру світла

1 – фотобіореактори, освітлювані різним кольором; 2 – лампочки відповідного кольору спектру видимого світла; 3 – суспензія мікробіодоростей *Chlorella*; 4 – штатив; 5 – барботажні трубки з повітрям; 6 – пристрій для барботування; 7 – кришка для ємностей; 8 – розетки

## 2.6. Методика визначення приросту біомаси в залежності від концентрації діоксиду сульфуру ( $\text{SO}_2$ )

Для вивчення впливу діоксиду сульфуру на приріст мікробіодоростей та процес поглинання вуглекислого газу мікробіодоростями *Chlorella*, їх культивували у чотирьох фотобіореакторах об'ємом  $1,5 \text{ дм}^3$  протягом 12 діб, рис 2.6.

Оскільки діоксид сульфуру в водному середовищі поглинається *Chlorella* у вигляді йону  $\text{HSO}_3^{-2}$ , то до суспензії досліджуваного розчину додавали йон  $\text{HSO}_3^{-2}$ . У фотобіореактори вносили відомі концентрації  $\text{HSO}_3^{-2}$ . Відповідно контрольний взірець не містив  $\text{HSO}_3^{-2}$ .

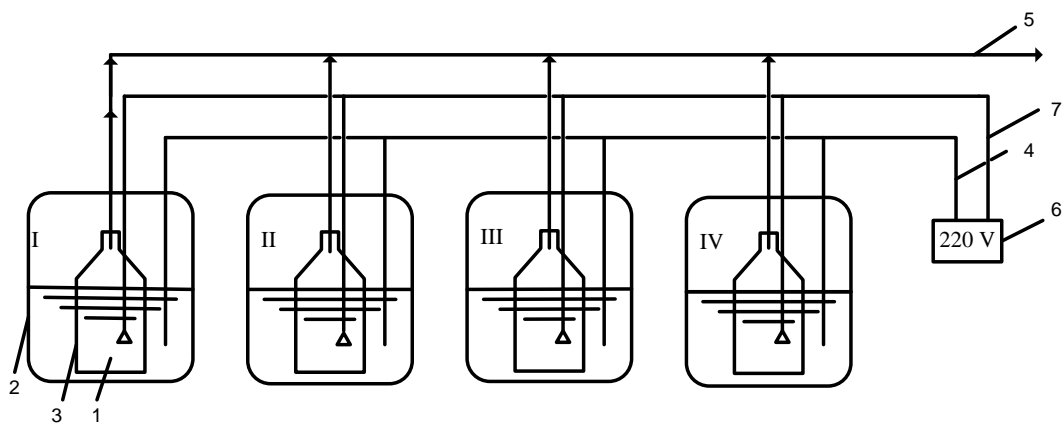


Рис. 2.6. Схема експериментальної установки для культивування мікробіодоростей за різної концентрації  $\text{HSO}_3^{-2}$

1 – культура мікробіодоростей *Chlorella*; 2 – водяна баня; 3 – фотобіореактор; 4 – термостати; 5 – повітря; 6 – розетки; 7 – барботуючий пристрій

Для експерименту використовували базове живильне середовище, у яке вводили рівну кількість розчину із культурою мікробіодоростей *Chlorella*. Водорості отримували однакову кількість природнього освітлення. У всіх чотирьох зразках подавали однакову кількість вуглекислого газу, який барботували з повітря, температура культивування становила  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Відбір проб з суспензії біомаси мікробіодоростей для замірів оптичної густини здійснювали протягом дослідження кожного дня. Визначення концентрації біомаси мікробіодоростей проводили фотоколориметричним методом.

Для забезпечення максимальної точності і чутливості вимірювання проводилися із застосуванням синього світлофільтра в кюветі з товщиною шару 10 мл. Як розчин порівняння використовували воду.



## **2.7. Методика визначення приросту біомаси в залежності від концентрації окислів нітрогену ( $\text{NO}_x$ )**

Вплив окислів азоту на процес поглинання вуглекислого газу мікроводоростями та приріст біомаси досліджували аналогічно до визначення впливу інших параметрів.

У даному експерименті використовували лабораторну установку з фотобіореакторами об'ємом  $1,5 \text{ дм}^3$ . Використовували базове живильне середовище, у яке вводили рівну кількість суспензії із культурою мікроводоростей *Chlorella*. Оскільки діоксин азоту в водному середовищі засвоюється мікроводоростями у вигляді аніону  $\text{NO}_3^-$ , то до суспензії досліджуваного розчину додавали аніону  $\text{NO}_3^-$ . Для дослідження у кожен фотобіореактор вносили відому концентрацію аніону  $\text{NO}_3^- \text{ г/м}^3$ , рис 2.7.

В процесі дослідження, водорості отримували однакову кількість природнього освітлення. У всі фотобіореактори подавали однакову кількість вуглекислого газу, який барботували з повітрям. Температура культивування становила  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Відбір проб із суспензії біомаси мікроводоростей для замірів оптичної густини здійснювали протягом дослідження кожного дня.

Визначення концентрації біомаси мікроводоростей проводили фотоколориметричним методом.

Для забезпечення максимальної точності і чутливості вимірювання проводилися із застосуванням синього світлофільтра в кюветі з товщиною шару 10 мл. Як розчин порівняння використовували воду.

## **2.8. Методика визначення концентрації $\text{CO}_2$ за значенням рН**

Найважливішим компонентом для мінерального живлення мікроводоростей та процесу фотосинтезу в них є неорганічний вуглець, який надходив до живильного середовища барботуванням з повітря вуглекислого газу та додаванням  $\text{CO}_2$ .

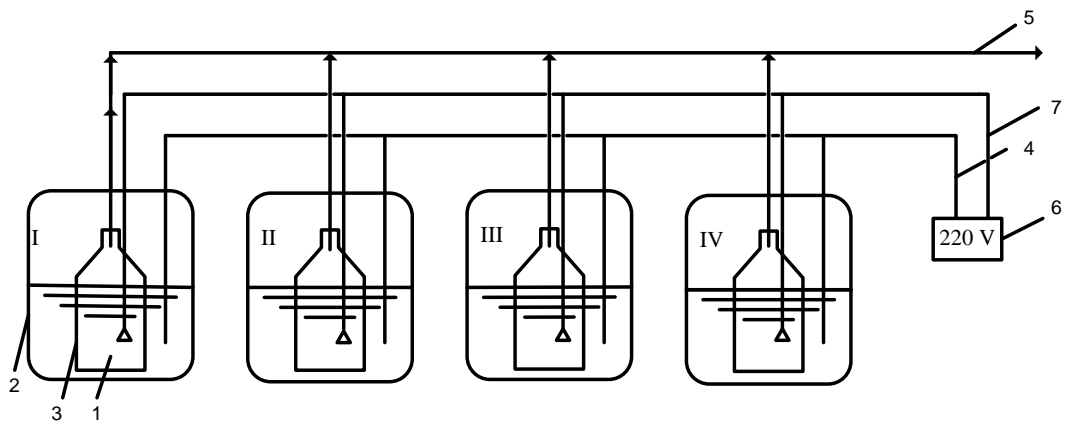
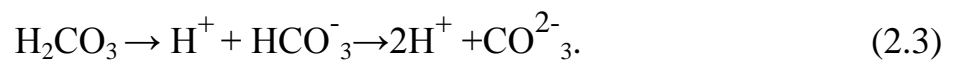
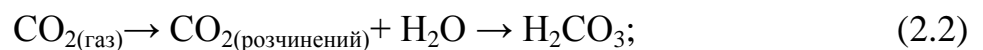


Рис. 2.7. Схема експериментальної установки культивування мікроводоростей за різної концентрації аніону  $\text{NO}_3^-$

1 – культура мікроводоростей типу *Chlorella*; 2 – водяна баня; 3 – фотобіореактор; 4 – термостати; 5 – повітря; 6 – розетки; 7 – барботуючий пристрій

У водному середовищі вуглець засвоюється у інших формах на відміну від наземних рослин, які асимілюють  $\text{CO}_2$  з повітря. Розчинений вуглекислий газ ( $\text{CO}_2$ ) у воді взаємодіє з нею та утворює вугільну кислоту ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), яка дисоціює на йони гідрокарбонат  $\text{HCO}_3^-$  – і карбонат  $\text{CO}_3^{2-}$  [83,105]:



Як видно з рівнянь, співвідношення та кількість  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  у воді в більшості залежить від рН. Так, при  $\text{pH} < 7$ , тобто в кислому середовищі домінуючою є вугільна кислота або вільний  $\text{CO}_2$ , при  $\text{pH} 7 - 9$  домінуючим є йон  $\text{HCO}_3^-$ , а при значеннях  $\text{pH} > 9$  домінуючими є аніони карбонату  $\text{CO}_3^{2-}$  (рис 2.9) [3]. Інші чинники які впливають на кількість і співвідношення  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  у воді це концентрація солей, парціальний тиск вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) в атмосфері і температура.

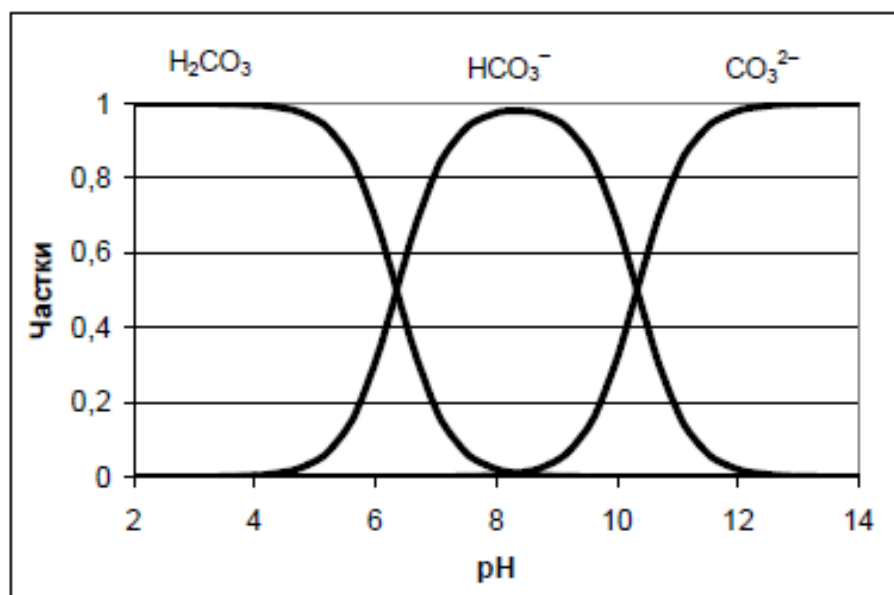


Рис. 2.8. Графік залежності відносного вмісту форм вугільної кислоти від рН середовища [83]

Отже, враховуючи літературні дані залежності вмісту вуглекислого газу від показника рН, за його значеннями визначали концентрацію вуглекислого газу в середовищі культивування та спостерігали за змінами приросту мікробдоростей під впливом вуглекислого газу.

### 2.8.1. Контроль за зміною кількості вуглекислого газу в часі за показами рН-метра

Дія рН-метра або визначення показника кислотно-лужного балансу заснована на вимірюванні електрорушійної сили електродної системи. Вона має пропорційну залежність з активністю іонів водню в розчині, тобто водневого показника рН [109]. Дана вимірювальна схема складається з двох електродів, індикаторного або вимірювального (найчастіше застосовують сляний електрод) і допоміжного (хлор срібного,  $\text{AgCl}$ ), для порівняння електричних потенціалів. Під час занурювання у досліджувану суспензію двох електродів відбувається

перенесення електронів від першого електроду до другого, внаслідок замикання електричного поля. Таким чином визначали показник рН в нашій системі з мікроводоростями [111].

## 2.9. Методика визначення приросту концентрації біомаси

Як було зазначено раніше концентрацію біомаси мікроводоростей визначали за допомогою фотоколориметричного методу. Працюючи в області низьких концентрацій, користувались методом калібрувального графіка. Щодобово з кожного фотобіореактора відбирали по 5 мл суспензії мікроводоростей та вимірювали оптичну густину у кюветі з товщиною шару 10 мм за допомогою фотоелектроколориметра з синім світлофільтром (довжина хвилі 420 нм). В якості розчину порівняння використовують воду.

Концентрацію мікроводоростей у взірці визначали за формулою:

$$C = \frac{D}{k}, \quad (2.4)$$

де  $C$  – концентрація мікроводоростей, мг/мл;

$D$  – оптична густина;

$k$  – коефіцієнт, який дорівнює тангенсу кута нахилу калібрувальної прямої.

## 2.10. Прилади контролю приросту біомаси.

Для вивчення динаміки приросту біомаси використовували фотоелектроколориметр ФЕК – 56, рис 2.1.

Основний принцип роботи фотоколориметра полягає в порівнянні інтенсивності світла фонового світлового потоку, тобто того, що пропущений через контрольну рідину (розчинник) і основного світлового потоку, пропущеного через досліджуваний забарвлений розчин. Вміст досліджуваної речовини в розчині визначає ступінь світлопоглинання чи оптична густина ( $A$  або  $D$ ). Дане порівняння світлових потоків, фонового та основного називається коефіцієнтом

пропускання,  $T$ . Світлопоглинання або оптична густина  $A(D)$  має вираз десяткового логарифму коефіцієнта пропускання. Отже, концентрація розчиненої в досліджуваному середовищі речовини прямо пропорційна оптичній густині  $A(D)$  середовища.

В приладі присутній фотоелемент, який необхідний для отримання даних про інтенсивність світла. Він перетворює світлове випромінювання на електричний сигнал. Фоновий і основний світлові потоки, які були згадані раніше фотоелемент, сполучений з провідником перетворює на електричний струм, сила якого вимірюється за допомогою амперметра. Відстежуючи зміну сили струму, мікропроцесор апарату визначає концентрацію досліджуваної речовини. Характер даних змін можна прослідкувати на дисплеї апарата фотоколориметра, де зображається оптична густина  $A(D)$  [105-107, 108].

Контроль за зміною кількості вуглекислого газу в часі спостерігали також за показами рН-метра.

Дія рН-метра або визначення показника кислотно-лужного балансу заснована на вимірюванні електрорушійної сили електродної системи. Вона має пропорційну залежність з активністю іонів водню в розчині, тобто водневого показника рН [109]. Дана вимірювальна схема складається з двох електродів, індикаторного або вимірювального (найчастіше застосовують сляний електрод) і допоміжного (хлор срібного,  $AgCl$ ), для порівняння електричних потенціалів. Під час занурювання у досліджувану суспензію двох електродів відбувається перенесення електронів від першого електроду до другого, внаслідок замикання електричного поля. Таким чином визначали показник рН в нашій системі з мікроводоростями [111].

## ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2

1. Описано фізико-хімічні методи аналізу, для визначення приросту біомаси мікроводоростей з метою вивчення впливу таких чинників як температура,

концентрація вуглекислого газу, довжина світлової хвилі, вміст оксидів сульфуру та нітрогену на процес фотосинтезу.

2. Наведено методики культивування мікроводоростей для подальшого вивчення процесу приросту біомаси в залежності від температури, концентрації вуглекислого газу, довжини світлової хвилі, концентрації оксидів сульфуру та нітрогену.
3. Описано методику визначення концентрації вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) за значенням Ph з метою спостереження за змінами приросту мікроводоростей під його впливом.
4. Наведено схеми експериментальних установок культивування мікроводоростей в залежності від температури, за різного спектру світла та різної концентрації йонів  $\text{HSO}_3^{-2}$  та  $\text{NO}_3^-$ .
5. Наведено основні прилади для визначення приросту біомаси мікроводоростей.

## РОЗДІЛ 3

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ПОГЛИНАННЯ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ ХЛОРОФІЛВМІСНИМИ МІКРОВОДОРОСТЯМИ

Розділ присвячений вивченню механізму поглинання парникових газів, зокрема вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) мікроводоростями *Chlorella*. Питання утилізації  $\text{CO}_2$  на сьогодні є найбільш гострим та обговорюваним на світовому рівні держав, оскільки він є причиною виникнення парникового ефекту.

В розділі приведено результати експериментального дослідження впливу низки чинників на динаміку поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями типу *Chlorella* а саме:

- вплив концентрації парникових вуглекислого газу;
- вплив температури середовища;
- вплив довжина світлової хвилі ;

Запропоновано механізм транспорту вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) у внутрішній об'єм клітини мікроводоростей.

#### 3.1. Вивчення механізму поглинання вуглекислого газу клітинами хлорофілвмісних мікроводоростей

Загальне поняття фотосинтезу стосується трансформації неорганічних сполук ( $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$ ) за участі сонячної енергії в енергію хімічних зв'язків та органічні сполуки, у вуглеводні. За рахунок внутрішнього джерела біосфери, фотосинтез призводить до зростання її вільної енергії. Біомаса, яка утворюється в результаті процесу фотосинтезу - це джерело енергії. Тому продукти цілеспрямованого фотосинтезу можуть використовуватись з ціллю рекуперації енергії, зокрема анаеробний біорозклад з метою одержання метану. Мікроводорості як і інші рослини мають здатність до фотосинтезу. Окрім того хлорофілвмісні мікроводорості мають перевагу, яка полягає у швидкому рості і

поглинанні набагато більшої кількості вуглекислого газу якщо порівнювати їх із рослинами, а також адаптуються у несприятливих умовах. Тому пошук шляхів застосування фотосинтезу з метою поглинання вуглекислого газу в промислових умовах є актуальним завданням сьогодення .

Реакція перетворення енергії світла в хімічну енергію відбуваються за участі мембранах клітин водоростей чи зеленого листя рослин. Молекулярна будова мембран в цих організмах дуже різниться і фотохімічні реакції в них також різні. Водночас, реакції фотосинтезу у всіх цих різних системах мають одну спільну рису - світлова енергія, поглинута мембранами, перетворюється у хімічну енергію АТФ (аденозинтрифосфат), який має велике значення у обміні енергії і речовин в хлорофілвмісних організмах [114].

Аденозинтрифосфат або АТФ – це універсальне джерело енергії, що приймає участь у біохімічних процесах та має велике значення для утворення ферментів. Таким чином, АТФ грає роль «палива» в живій клітині: розкладаючись, ця сполука виділяє енергію, подібно до того як виділяється енергія при спалюванні звичайного палива (газу, нафти). Але відмінність в тому, що енергія, що виділяється при розкладанні АТФ, переходить не в теплоту, а в хімічну енергію нових зв'язків або на перебудову різних надмолекулярних структур клітини .

Усі види фотосинтезуючих мікрободоростей об'єднує те, що енергія світла, яка поглинається у фотосинтетичному апараті переходить в хімічну енергію молекул АТФ. Енергія АТФ використовується фотосинтезуючими мікрободоростями для засвоєння вуглецю та інших сполук, що знаходиться у зовнішньому середовищі і перетворенням їх у вуглеводні.

Клітинні мембрани регулюють транспорт вуглекислого газу, води та інших розчинених у воді компонентів. Таким чином, внесені у середовище культивування речовини сприяють поглинанню вуглекислого газу.

В літературі мало відомостей про механізм проникнення вуглекислого газу з повітря всередину хлорофілвмісних клітин мікрободоростей, В основному є



інформація щодо транспорту газів, який здійснюється відповідно до градієнту концентрації.

Проте, насправді, участь вуглекислого газу в масообміні клітини, зокрема клітини мікродорості, із зовнішнім середовищем супроводжується рядом складних біохімічних реакцій, організованих у часі й просторі. Біомаса мікроорганізмів, кількість окремих клітин мікродоростей, концентрація поглинаючої речовини та інші складові біохімічного перетворення можуть змінюватись внаслідок цих процесів.

Таким чином, транспорт вуглекислого газу всередину хлорофілвмісних клітин, що тотожно поглинанню вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) хлорофілвмісними мікродоростями - є складним гетерофазним процесом, у якому відбувається міжфазове масоперенесення вуглекислого газу із газової в «умовно тверду». Такі процеси характеризуються сукупністю кінетичних та дифузійних факторів, що впливають на їх швидкість. Дана система є трьохфазною «газ-рідина-клітина» і якщо порівнювати її зі складними газорідинними двофазними системами, то існує більше труднощів під час її опису. Мова йде про етапи проникнення вуглекислого газу спочатку у водну фазу, згодом шляхом дифузії до поверхні клітини мікродорості і наступним етапом транспорт через мембрану всередину «умовно твердої» фази клітини .

Отож у випадку хлорофілвмісних мікродоростей пропонується механізм поглинання вуглекислого газу клітинами мікродоростей, який умовно складається з п'яти етапів:

- перехід  $\text{CO}_2$  із газової фази у водну;
- дифузія  $\text{CO}_2$  до поверхні біомаси колоній мікродоростей;
- дифузія  $\text{CO}_2$  в міжклітинному просторі до поверхні «умовно твердої» фази, клітини мікродорості;
- дифузія через пористу оболонку клітин колоній мікродоростей.
- фотосинтез.

В основі нашого кінетичного дослідження та опису процесу поглинання вуглекислого газу хлорофіл синтезуючими мікродоростями лежить, як було

сказано вище, сукупність кінетичних та дифузійних факторів, ускладнених масопереносом. А тому існує необхідність створення такого режиму проведення процесу поглинання вуглекислого газу, під час якого вплив дифузійних процесів масопереносу буде незначним, або ним можна знехтувати .

### **3.1.1. Перший етап - перехід вуглекислого газу (CO<sub>2</sub>) із газової фази у водну**

На цьому етапі відбувається транспорт вуглекислого газу (CO<sub>2</sub>) із газової фази в водне середовище, де відбувається культивування мікроводоростей. Коефіцієнт масопереносу, який супроводжує даний процес математично, може бути представлений таким рівнянням.

$$k' = \frac{1}{\frac{1}{\beta_1} + \frac{m}{\beta_2}} , \quad (3.1)$$

де  $k'$  - коефіцієнт масопередачі;

$m$  - коефіцієнт розподілу,

$\beta_1, \beta_2$  - коефіцієнти масовіддачі.

### **3.1.2. Другий етап: дифузія CO<sub>2</sub> до поверхні колоній біомаси мікроводоростей**

Даний процес можна описати за допомогою рівняння масопередачі:

$$\frac{dM}{dt} = \beta F (C - C_{CO_2}) ; \quad (3.2)$$

де  $M$  - маса CO<sub>2</sub> яка перейшла крізь об'єм розчину суспензії до поверхні колоній мікроводорості;  $t$  - час;  $\beta$  - коефіцієнт масовіддачі;  $F$  - площа поверхні масообміну;  $C$  ,  $C_{CO_2}$  – концентрація CO<sub>2</sub> у основній масі суспензії

мікробіодоростей і концентрація  $\text{CO}_2$  біля поверхні колоній мікробіодоростей відповідно.

### **3.1.3. Третій етап: дифузія $\text{CO}_2$ в міжклітинному просторі до поверхні «умовно твердої» фази, клітини мікробіодорості.**

Розчинений газоподібний  $\text{CO}_2$  (субстрат) за рахунок дифузійного переносу в рідкій фазі досягає клітинної стінки, а далі відбувається транспорт крізь клітинну мембрану безпосередньо всередину клітини.

Даний процес, досягнення клітинної стінки кількісно описується наступним рівнянням (3.26) :

$$D_m = \varepsilon D_l, \quad (3.3)$$

де  $D_m$  – коефіцієнт дифузії вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) в міжклітинному просторі колоній мікробіодоростей;  $\varepsilon$  - коефіцієнт, що визначається пористістю колоній мікробіодоростей і зображає відношення об'єму колоній мікробіодоростей до міжклітинного об'єму;  $D_l$  - коефіцієнт дифузії вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) у воді.

Тут слід зазначити, що поверхня клітин мікробіодоростей захищена водною плівкою.

### **3.1.4. Четвертий етап: дифузія через мембрану клітин колоній мікробіодоростей**

Проникнення (транспорт) вуглекислого газу через клітинну мембрану, (пористу оболонку), як було зазначено вище може здійснюватися за рахунок пасивного або активного транспорту, або за рахунок пасивної дифузії чи активної дифузії.

За теорією *пасивного транспорту* через пори мембрани вуглекислий газ буде дифундувати відповідно до градієнту концентрацій, згідно закону Фіка, так

званої пасивної дифузії. Тобто за лінійною залежністю кількості прониклого вуглекислого газу через клітинну мембрану, від його концентрації.

Пасивний транспорт може бути описаний представленим нижче рівнянням Фіка:

$$\gamma = - D \text{ grad } C, \quad (3.4)$$

де  $\gamma$  – дифузійний потік;  $C$  – концентрація вуглекислого газу в об'ємі розчину культивування;  $D$  – коефіцієнт дифузії  $\text{CO}_2$  через клітинну мембрану.

Процес дифузії крізь стінку мембрани характеризується градієнтом концентрації по обидві сторони мембрани. Дифузія крізь пори стінки мембрани визначається товщиною і пористістю мембрани клітини мікрободорості. Маса транспортованої речовини ( $\text{CO}_2$ ) визначається наступним рівнянням:

$$M = K_0 F \Delta C, \quad (3.5)$$

де  $M$  – маса вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ),  $K_0$  – коефіцієнт швидкості переносу вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ),  $F$  – площа масопереносу,  $\Delta C$  – середньологарифмічна різниця концентрацій.

Під час *активної дифузії* білки-перносники (ферменти) сприяють переносу, транспортуючи вуглекислий газ із середовища з низькою концентрацією в середовище з високою концентрацією і цей транспорт пов'язаний з витратою енергії, аденозинтрифосфату (АТФ). Цей механізм призводить до надмірного накопичення речовини, тобто утворюється максимально можливе кількість фермент-субстратних комплексів і спостерігають найвищу швидкість утворення продукту. Процес активної дифузії описується гіперболічною залежністю кількості вуглекислого газу, що проникає через клітинну мембрану і не суттєво залежить від його концентрації [118].

### 3.1.5. П'ятий етап: фотосинтез

На цьому етапі відбувається фотосинтез за участі мінеральних речовин

серед який вуглекислий газ є вирішальним.

Як було зазначено вище, фотосинтез - це трансформація неорганічних сполук ( $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$ ) за участі світлової енергії в енергію хімічних зв'язків та органічні сполуки, у вуглеводні. На цьому етапі клітина починає розрізняти молекули, що поглинаються тому необхідно більш детально дослідити механізм впливу вуглекислого газу та інших супутніх оксидів на явища, які супроводжують фотосинтез.

Математично швидкість фотосинтезу можна описати наступним кінетичним рівнянням:

$$\frac{dc}{dt} = k_A [C_{\text{CO}_2}] \cdot [C_{\text{H}_2\text{O}}]; \quad (3.6)$$

де  $k_A$  – константа швидкості біохімічної реакції фотосинтезу.

Залежність константи швидкості біохімічної реакції  $k_A$  від температури  $T$  описане рівнянням хімічної кінетики (рівнянням Арреніуса) і має вигляд:

$$k_A = k_0 \cdot e^{-\frac{E}{RT}}; \quad (3.7)$$

де  $E$  - енергія активації;  $R$  - газова стала.

Як було зазначено раніше, досліджувані біохімічні процеси характеризуються сукупністю кінетичних та дифузійних факторів та можуть бути описані моделлю масопереносу вуглекислого газу із газової фази в «умовно тверду», якою прийнято вважати клітину хлорофілмісних мікродоростей. У даному випадку достатньо значним може виявитися сумарний опір досягненню вуглекислого газу до кінцевого місця біохімічної реакції фотосинтезу. Важливим, у такому випадку, було визначення цього опору, встановлення який із них можливо був би лімітуючим, а відтак мав би найбільший вплив на загальну швидкість процесу поглинання.

Отже, сумарний коефіцієнт масопередачі у процесі біологічного очищення промислових газових викидів від  $\text{CO}_2$  хлорофілвмісними мікрободоростями, згідно правила адитивності, має такий вигляд:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{k'} + \frac{l}{D_m} + \frac{\delta}{D_c} + \frac{1}{kd_{\text{пр}}}} \quad ; \quad (3.8)$$

де  $k'$ - це сума коефіцієнтів масовіддачі із газового у водне середовище, а саме  $k' = \frac{1}{\beta_1 + \beta_2}$ , тут  $\beta_1$  – коефіцієнт масовіддачі із газового середовища до поверхні розділу фаз і  $\beta_2$  – коефіцієнт масовіддачі від поверхні розділу фаз у основний об'єм суспендованого середовища мікрободоростей;  $l$  – позначення умовного середнього розміру колоній мікрободоростей;  $D_m$  – коефіцієнт дифузії  $\text{CO}_2$  в міжклітинному просторі колоній мікрободоростей;  $\delta$  – товщина мембрани клітини мікрободорості;  $D_c$  – коефіцієнт дифузії вуглекислого газу через клітинну мембрану;  $k$ - константа швидкості біохімічної реакції фотосинтезу,  $d_{\text{пр}}$ . – приведений діаметр (розмір) клітини мікрободорості.

Сумарний коефіцієнт масопередачі може бути зображений і у вигляді сумарного опору масопереносу і мати такий вигляд:

$$\frac{1}{K} = \frac{1}{k'} + \frac{1}{k_m} + \frac{1}{k_c} + \frac{1}{k_{\text{пр}}} \quad ; \quad (3.9)$$

Процес фотосинтезу протікає у водному середовищі, в умовах надлишку води, тому, лімітуючим чинником наймовірніше виступає концентрація вуглекислого газу. Отже концентрація води на швидкість реакції фотосинтезу не впливає, а отже це реакція першого (нульового) порядку. Швидкість реакції постійна в часі і залежить від концентрації вуглекислого газу, оскільки середовище культивування мікрободоростей є водним і шидкість дифузії

вуглекислого газу до поверхні стінки клітини менша за швидкість їх біохімічного перетворення .

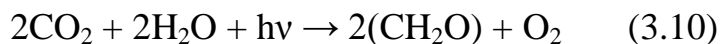
Усі біологічні об'єкти дуже складні та чутливі і всі процеси, які протікають в них обумовлені впливом багатьох взаємозалежних факторів. Найвагоміші серед них і є об'єктами нашого дослідження, це: ступінь аерації вуглекислим газом середовища культивування, його лужно-кислотний баланс, температура, світловий потік певного діапазону хвиль, вміст інших оксидів і т. д. Таким чином звязування вуглекислого газу у біомасу мікробдоростей із поглинанням вуглекислого газу з повітря задіяні дифузійні, хімічні та біологічні процеси. Тому лише за рахунок кореляції фізико-хімічних величин з біологічними можна одержати глибоке розуміння процесів у досліджуваному об'єкті.

Отож сумарне значення коефіцієнту масопереносу можна визначити, якщо припустити, що впродовж дослідження інтенсифікували підвід вуглекислого газу до поверхні мікробдоростей з основного об'єму барботуючи ним водний розчин суспензії фотобіореактора. Тому в даному випадку коефіцієнт масовіддачі -  $\beta$  є відносно великою величиною, а оберненим його значенням (див. (3.8, 3.9)) можемо знехтувати. З урахуванням пористості колоній мікробдоростей ( $\epsilon=0,4$ ), припускаємо конвективний масоперенос вуглекислого газу в міжклітинному об'ємі колоній, а відтак другим коефіцієнтом знаменнику виразу (3.9) також нехтуємо. Усі інші величини рівняння 3.9 чи 3.8 є відомі. Саме в такий спосіб може бути визначений сумарний опір.

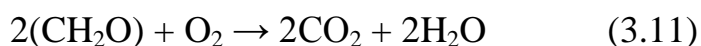
Отож, враховуючи, що води у внутрішньоклітинному середовищі є вдосталь і швидкість реакції не залежить від концентрації води, а тільки від концентрації вуглекислого газу, весь цей складний механізм проникнення вуглекислого газу із повітря у клітину мікробдорості аж до фотосинтезу доцільно вивчати і надалі.

### 3.2. Залежність приросту біомаси мікроводоростей від концентрації вуглекислого газу

Сумарну реакцію оксигенного (тобто аеробного) фотосинтезу можна записати як:



де:  $h\nu$  - енергія сонячного світла, а  $(\text{CH}_2\text{O})$  узагальнена формула органічної речовини (біомаси). Зворотний процес можна записати як:



При цьому буде вивільнятися необхідна енергія.

Для визначення приросту біомаси мікроводоростей в залежності від впливу концентрації вуглекислого газу було обрано діапазон досліджуваних концентрацій вуглекислого газу, що не перевищує 6%.

За літературними даними відомо, що при значних концентраціях вуглекислого газу 6-25 %, у газовій суміші, яка барботується через фотобіореактор спостерігається сповільнення приросту біомаси мікроводоростей [31]. За таких обставин нами при дослідженні були обрані концентрації, що не перевищують 2 % .

В процесі досліджень культуру мікроводоростей *Chlorella* культивували за температури  $25 \pm 2$  °С при природньому освітленні протягом 9 діб у трьох фотобіореакторах об'ємом 1,5 дм<sup>3</sup>. Перший фотобіореактор – контрольний, через другий барботували повітря, а у третій та четвертий – вуглекислий газ. Концентрацію вуглекислого газу в середовищі культивування визначали за значенням рН середовища. Для експерименту використовували базове живильне середовище, у яке вводили рівну кількість розчину із культурою мікроводоростей *Chlorella*.



В процесі барботування концентрація мікрободоростей збільшувалася та дуже швидко з майже прозорого розчину, утворилася рідина темно-зеленого кольору.

Результати експериментальних досліджень графічно представлено на рис. 3.1. Як видно з рисунку в контрольному фотобіореакторі відсутнє барботування, рооте піддавали періодичному перемішуванню. Тому при досягненні певного значення концентрації мікрободоростей, як природнього процесу поділу клітин у ньому відбувається асоціація клітин мікрободоростей, укрупнення їх та подальше осідання. Таким чином, крива, яка описує їх приріст опускається вниз. Мікрободорості, що залишились, продовжують поділ і дана крива повертає доверху (рис.3.1).

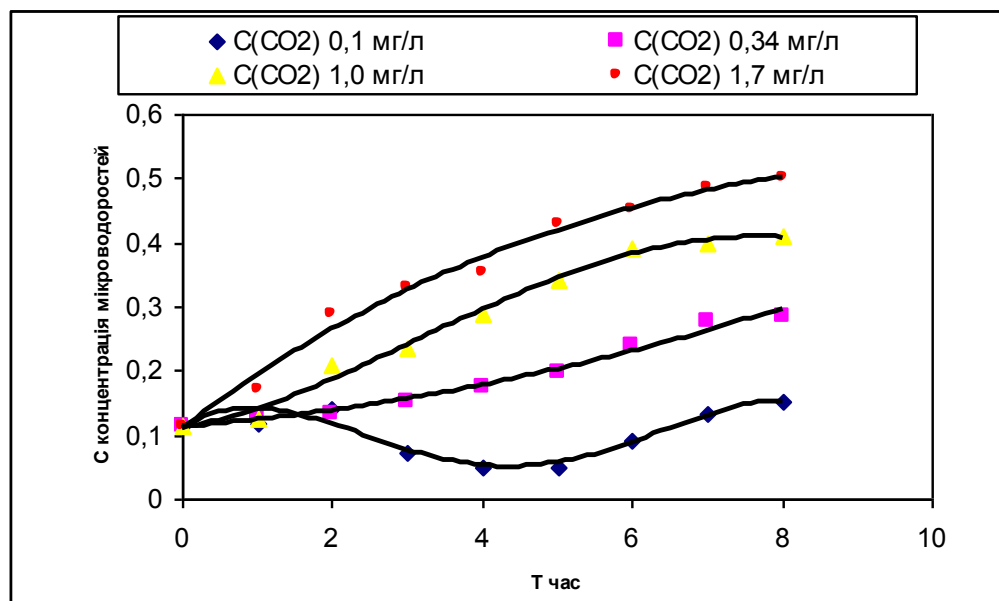


Рис. 3.1. Криві приросту біомаси мікрободоростей в часі за різних значень концентрацій вуглекислого газу

Швидкість росту мікрободоростей в інших фобіореакторах змінюється в часі. Криві, що описують зміну густини біомаси мікрободоростей в часі або залежність числа функціонуючих живих клітин, для досліджуваних процесів, називається кривими приросту. Ці криві зміни приросту біомаси мікрободоростей представлені на цьому ж рис. 3.1.

Зі збільшенням концентрації вуглекислого газу, що було створено завдяки барботуванню у інших фотобіореакторах, приріст зростає, але у всіх випадках буде завершуватись на одному рівні, який обумовлений розчинністю вуглекислого газу у воді. Чим більше вуглекислого газу у газових викидах тим швидше настає насичення суспензії ним і тим швидше криві йдуть до верху. Осідання культури у досліджуваних біореакторах де відбувалось барботування не спостерігається через те, що барботуючи середовище, утворені асоціати мікроводоростей знаходяться у завислому стані, тобто безпосередньо у середовищі барботування, тому криві приросту напрямлені вгору (рис.3.1).

Для кривих приросту, як і у випадку контрольного взірця, характерна S-подібна форма на якій спостерігається чотири фази росту. Ці фази змінюють одна одну у певній послідовності і характеризуються більшою або меншою мірою наступним: початкова, або лаг-фаза, тоді експоненційна, її ще називають логарифмічною, наступна лінійна фаза, тоді стаціонарна фаза, і нарешті фаза осідання культури.

**Лаг-фаза.** Це початкова фаза яка характеризується проміжком часу між введенням інокулянту з мікроводоростями (засівом культури мікроводоростей в середовище культивування) та досягненням максимальної швидкості поділу клітин мікроводоростей. Тривалість даної фази, в основному, залежить від попередніх умов барботування (культивування), віку інокуляту, концентрації клітин мікроводоростей в інокуляті, а також від ступеня оптимальності середовища барботування для росту мікроводоростей. Слід зауважити, що лаг-фаза може не спостерігатись у випадку використання великої концентрації клітин мікроводоростей в суспензії інокулянту або її тривалість скорочується .

**Експоненційна фаза або фаза експоненційного росту.** Дана фаза описує адаптацію мікроводоростей до реальних умов середовища існування. На даному етапі, мікроводорості отримують достатню кількість поживних речовин і немає надлишку продуктів обміну. Фазу експоненційного росту називають логарифмічною. Для неї характерна постійна максимальна питома швидкість приросту концентрації клітин мікроводоростей, що можлива в заданих умовах,

Час подвоєння біомаси  $t_d$  та час генерації клітин  $g$  дорівнюють максимальним значенням. Експоненційний ріст описується рівнянням:

$$C_t = C_0 \exp (\pm k t), \quad (3.12)$$

де  $C$  – біжуча концентрація клітин мікроводоростей в біомасі;  $C_0$  – концентрація клітин мікроводоростей в біомасі у початковий момент часу  $t=0$ ;  $k$  - коефіцієнт приросту біомаси мікроводоростей.

Розмір клітин і маса багатьох клітин мікроводоростей у цій фазі залишаються постійними, тому у цей період клітини хлорофілвмісних мікроводоростей називають «стандартні клітини».

У цій фазі доцільно проводити процеси поглинання вуглекислого та інших парникових газу та вести експериментальні дослідження їх обробку з метою одержання кінетичних констант для розрахунку процесів очищення газових викидів на практиці.

**Лінійна фаза.** Це фаза лінійного приросту, яка настає після фази експоненційного росту або логарифмічної, в період якої абсолютна швидкість приросту біомаси клітин і швидкість їх відмирання постійна.

$$\Delta C / \Delta t = \mu \quad (3.13)$$

$$C_t = \mu t \quad (3.14)$$

Тут, лінійна функція часу  $t$  - це концентрація клітин або густина біомаси, на відміну від експоненційної фази, де функцією є питомий приріст біомаси або числа клітин. У випадку погіршення умов в середовищі культивування, тобто, присутність інгібіторів, відсутність освітлення чи зниження температури, спричинять сповільнення швидкості приросту, і навіть експоненційний ріст може бути відсутній. За таких умов одразу наступає лінійна фаза росту.

**Стаціонарна фаза.** Вона характеризується тим, що густина суспензії або концентрація клітин мікробіодоростей припиняє збільшуватись. Це зумовлено зменшенням концентрації поживних мінеральних речовин, необхідних для приросту. Даний процес відбувається поступово, не до повного використання поживних речовин, тому після експоненційної фази виділяють лінійну. Зменшення приросту мікробіодоростей пояснюється не тільки нестачею мікроелементів, а й високою густиною суспензії. Наслідком є погіршення освітленості в суспензії та накопичення токсичних продуктів в середовищі, визначальним буде той фактор, що є лімітуючим.

**Фаза осідання** Клітини мікробіодоростей скупчившись у колоніях під силою тяжіння осідають на дно фотобіореактора .

Подальший аналіз кривих на рис. 3.1 дозволяє стверджувати, що динаміка приросту мікробіодоростей залежить від концентрації вуглекислого газу у середовищі культивування. Так при збільшенні концентрації вуглекислого газу в середовищі барботування відбувається збільшення вмісту біомаси.

Математично цей процес можна описати як зміну чисельності клітин мікробіодоростей за одиницю часу (концентрації) -  $C$ .

$$\frac{dC}{dt} = kC \quad (3.15)$$

де  $k$  – коефіцієнт приросту.

Абсолютна величина якого залежить від розмноження чи поділу клітин мікробіодоростей та їх відмирання.

Якщо момент часу  $t = 0$  чисельність клітин мікробіодоростей в одиниці об'єму  $C=C_0$ , то проінтегрувавши обидві частини диференційного рівняння (3.15), отримаємо вираз:

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = \int_0^t k dt \quad (3.16)$$

звідки

$$C = C_0 e^{kt} \quad (3.17)$$

Дане рівняння в логарифмічних координатах дозволяє визначити коефіцієнт приросту –  $k$ .

$$\ln \frac{C}{C_0} = kt \quad (3.18)$$

Аналізуючи експериментальні дані досліджень представлені на рис.3.2, можемо стверджувати, що графічно розв'язок (3.17) представляється кривими представленими на ньому.

Криві на рис. 3.1 описуються рівнянням (3.17), яке в логарифмічних координатах,  $\ln \frac{C}{C_0} = f(t)$ , дозволяє визначити коефіцієнт приросту  $k$ , як тангенс кута нахилу цих прямих.

$$\ln C_t = kt + \ln C_0 \quad (3.19)$$

Після підстановки експериментальних даних у рівняння (3.19) отримуємо числові значення (табл. 1.3) для побудови графічної залежності, що дозволяють в подальшому визначити коефіцієнт приросту. За його абсолютною величиною судять про швидкість розмноження та швидкість загибелі клітин в біомасі.

Таблиця 1.3

Розрахункові дані логарифму вмісту клітин мікроводоростей у фотобіореакторі від часу за відповідних концентрацій вуглекислого газу (рис.3.2)

Доби	$C_{(CO_2)} 0,1 \text{ мг/л}$	$C_{(CO_2)} 0,34 \text{ мг/л}$	$C_{(CO_2)} 1,0 \text{ мг/л}$	$C_{(CO_2)} 1,7 \text{ мг/л}$
0	0,115	0,115	0,115	0,115
1	0,118	0,128	0,124	0,17
2	0,142	0,133	0,208	0,288
3	0,074	0,152	0,235	0,33
4	0,048	0,174	0,288	0,355
5	0,051	0,198	0,343	0,43
6	0,092	0,241	0,391	0,45
7	0,134	0,276	0,399	0,485
8	0,15	0,284	0,409	0,5

Отримана на графічна залежність логарифму приросту вмісту клітин мікродоростей в біомаси від часу за відповідних концентрацій вуглекислого газу в середовищі барботування фотобіореакторів представлена рис. 3.2.

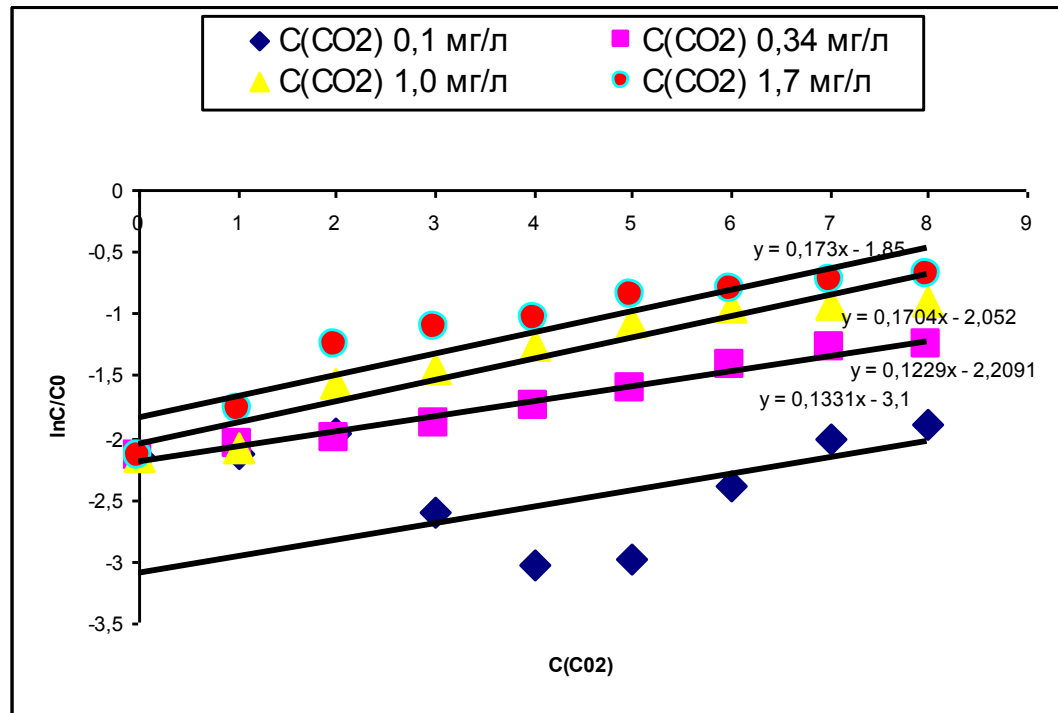


Рис.3.2. Логарифм приросту вмісту біомаси мікродоростей від часу за відповідних концентрацій вуглекислого газу

Аналізуючи прямі зміни логарифму вмісту біомаси в суспензії клітин мікродоростей від часу, та за рівняннями, що їх описують знайшли значення коефіцієнтів приросту, як тангенс кута нахилу цих прямих за відповідних концентрацій вуглекислого газу. Коефіцієнт приросту становить  $k_1=0.173$  доба<sup>-1</sup>;  $k_2=0.17$  доба<sup>-1</sup>;  $k_3=0.12$  доба<sup>-1</sup>;  $k_4=0,13$  доба<sup>-1</sup> відповідно.

Коефіцієнт приросту, може бути  $k > 0$ , за певного значення концентрації вуглекислого газу, може набувати від'ємного значення  $k < 0$  за умови дії певної концентрації негативного зовнішнього чинника (інгібітору фотосинтезу), а також бути рівним нулю.

Оскільки вуглекислий газ засвоюється мікродоростями у вигляді аніону, коректніше писати  $\text{HCO}_3^-$ . концентрацію його визначали за наченням рН.

Отже, при значенні концентрацій  $\text{HCO}_3^-$ : 0,1 мг/л; 0,34 мг/мл; 1,0 мг/мл; 1,7 мг/мл, концентрація мікробіомаси зростає, коефіцієнти приросту  $k > 0$ . Відповідно швидкість розмноження більше швидкості загибелі.

Оскільки, популяція мікробіомаси здатна до необмеженого експоненційного росту, іншим параметром, що характеризує приріст біомаси в суспензії, є питома швидкість приросту .

$$\mu = \Delta C / \Delta t , \quad (3.20)$$

де  $\Delta C$  – приріст біомаси мікробіомаси;  $\mu$  – коефіцієнт питомого приросту, питома швидкість росту, або питомий приріст густини [мг/л·доба].

Як видно з визначення, питома швидкість приросту  $\mu$  характеризує відносний приріст клітин мікроорганізмів за одиницю часу. Ріст називають експоненційним, коли питомий приріст густини,  $\mu$ , залишається незмінним протягом певного часу. Відповідно цей проміжок часу називають логарифмічною або експоненційною фазою росту.

В період експоненційного росту важливо встановити залежність значення коефіцієнту приросту від концентрації вуглекислого газу. На рис. 3.3 представлена залежність значень коефіцієнтів приросту від концентрації вуглекислого газу. Отримана крива описується експоненційною залежністю (3.21) з коефіцієнтом апроксимації  $R^2 = 0,9707$ , рис.3.3. ;

$$k = 0,1831 \exp (-0,3691C(\text{CO}_2)) \quad (3.21)$$

Як видно з графіка коефіцієнт приросту біомаси описується експоненційною залежністю, що добре узгоджується з літературними даними - *фази експоненційного росту*.

Крім цього, отримані експериментальні дані кінетики приросту біомаси (табл.1.3) дозволяють визначити швидкість приросту мікробіомаси в залежності від концентрації вуглекислого газу у середовищі барботування.

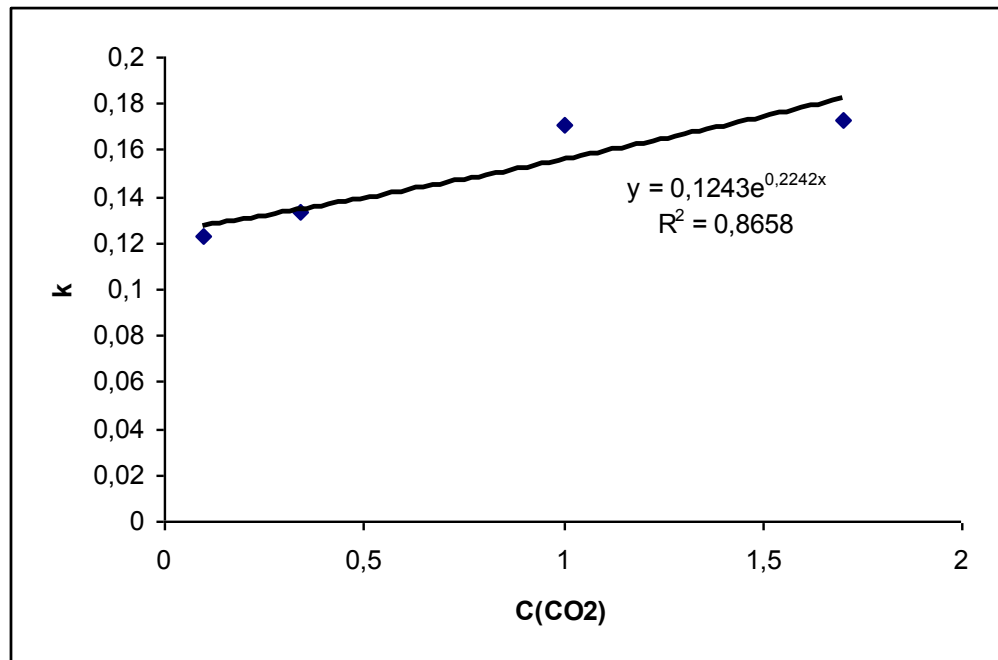
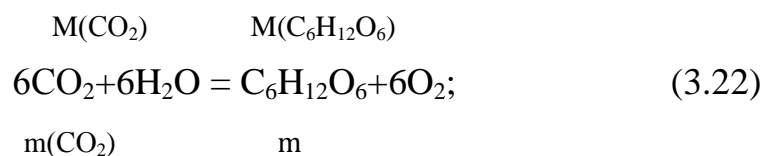


Рис.3.3. Залежність коефіцієнту приросту –  $k$  біомаси мікробіодоростей від концентрації вуглекислого газу

Кількість поглинутого вуглекислого газу в період експоненціального росту, теоретично може бути розрахована за рівнянням фотосинтезу при відомих значеннях концентрації біомаси.



$$m(\text{CO}_2) = \frac{m \cdot M}{M}; \quad (3.23)$$

$$m = V \cdot C; \quad (3.24)$$

де  $m$  – маса мікробіодоростей,  $V$  – об'єм фотобіореактора,  $C$  – концентрація мікробіодоростей в суспензії біомаси.



При подальшому аналізі експериментальних даних кінетики поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями розраховали швидкість поглинання вуглекислого газу мікрободоростями в залежності від концентрації вуглекислого газу в середовищі барботування (культивування). Отриману графічну залежність зображено на рисунку 3.4. Як видно з рисунку 3.4. швидкість поглинання вуглекислого газу залежить від його концентрації на короткому інтервалі досліджуваних значень. При досягненні певних значень концентрацій вуглекислого газу (рис. 3.4) швидкість міняється незначно.

Порівнюючи експериментально отриманий графік (рис. 3.4) залежності швидкості приросту біомаси мікрободоростей від концентрації вуглекислого газу з літературними даними (рис.3.5(а),(б)), можна зробити висновок, що наша крива подібна до кривої ферментативної кінетики (рис.3.5 (б)), а отже це дає підставу стверджувати, що це ферментативна кінетика поглинання, яка описується рівнянням Міхаеліса-Ментен.

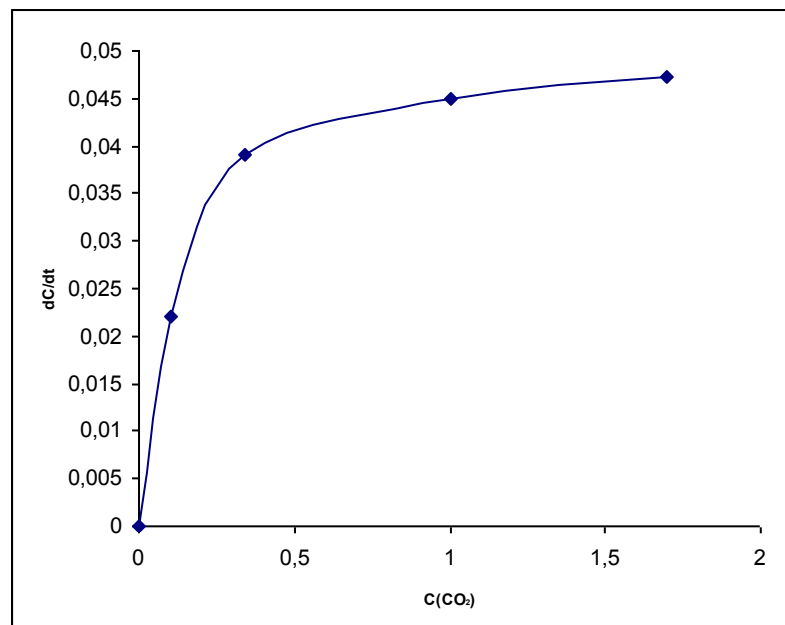


Рис. 3.4. Залежність швидкості приросту мікрободоростей від концентрації вуглекислого газу

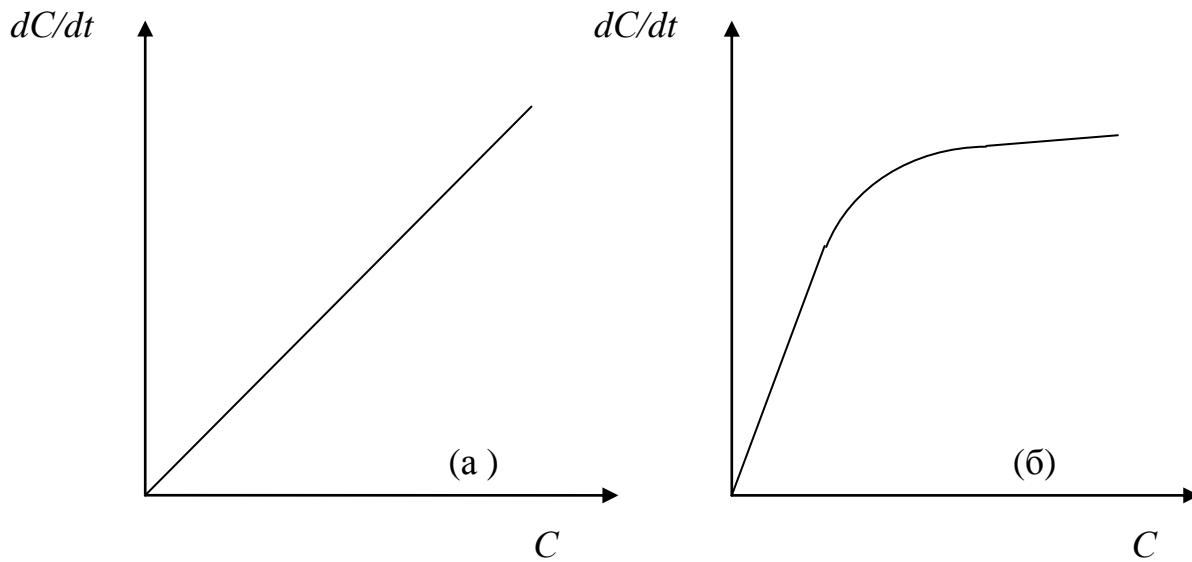


Рис.3.5. Залежність швидкості біохімічного процесу від концентрації субстрату за даними літератури [118].

а – хімічна кінетика; б – ферментативна кінетика

З рисунку 3.5а видно, що для хімічної кінетики, швидкість реакції пропорційна концентрації реагуючих речовин. Під час ферментативної кінетики швидкість біохімічної реакції (рис.3.5б) залежить від концентрації субстрату та ферменту і досягає певного максимального значення, за умови насичення ферменту субстратом, в даному випадку вуглекислим газом.

Враховуючи високу швидкість ферментативних реакцій, які каталізуються ферментами, лімітуючою стадією поглинання вуглекислого (фотосинтезу) в умовах нашого експерименту можна вважати дифузійну область.

Також можна припустити, що проникнення вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) крізь мембрану клітини мікроводорості у її внутрішній об'єм здійснюється шляхом активного транспорту, оскільки в цьому випадку задіяні також транспортні ферменти на мембранні стінці клітин), а відтак кінетика, що описує процес поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями в цілому називається ферментативною і може бути описана за допомогою рівняння Мехеліса-Ментен.

Рівняння Міхаеліса-Ментен має вигляд:

$$U = U_{max} \frac{[S]}{k_M + [S]} ; \quad (3.25)$$

де  $U_{max}$  - максимальна швидкість ферментативної реакції;

$S$  – концентрація вуглекислого газу (субстрату);

$k_M$  – константа Міхаеліса-Ментен, яка охарактеризує швидкість ферментативної реакції, що залежить від концентрації субстрату у стаціонарному стані процесу та вмісту ферменту.

Це рівняння пов'язує швидкість біохімічної реакції з концентрацією субстрату, тобто вуглекислого газу. В даному випадку слід припустити, що має місце активний транспорт вуглекислого газу через мембрану клітини мікроводорості. В такому випадку активний або ферментативний транспорт вуглекислого газу через клітинну мембрану і біохімічна реакція фотосинтезу каталізується відповідними ферментами. Тому логічним є припустити, що визначальним для приросту біомаси є процес транспорту вуглекислого газу через клітинну мембрану та біохімічна реакція фотосинтезу. Тобто процеси поглинання вуглекислого газу та супутніх йому відбуваються за ферментативно-кінетичним механізмом у кінетичній області, а відтак визначальним є температурний та світловий фактор, а також наявність інгібіторів та активаторів в явищі поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями. Все це буде дійсним за умови ведення процесу в умовах інтенсивної гідродинаміки, тобто коли створені всі умови для керування дифузійними процесами, а відтак нехтуванням дифузійних опорів.

Тому визначивши константу Мехаеліса-Ментен використовуючи експериментальні дані досліджень, що описують динаміку поглинання вуглекислого газу мікроводоростями, слід припустити, що вона пропорційна останньому члену рівняння (3.9), а сумарний коефіцієнт масопереносу -  $k$  є пропорційний константі приросту біомаси та константі Мехаеліса-Ментен  $k_M$ .

Тобто константа визначається значеннями суми останніх двох членів знаменника рівняння 3.10 тоді:

$$K \sim k \sim k_M \quad (3.26)$$

Для визначення констант Мехеліса-Ментен слід перетворити рівняння (3.25) до вигляду:

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{U_{max}} + \frac{k_m}{U_{max} [S]} ; \quad (3.27)$$

в системі координат,  $\frac{1}{U} = f \frac{1}{S}$ , є можливість отримати графік залежності оберненої швидкості приросту мікробудовостей від оберненої концентрації субстрату (вуглекислого газу), рис. 3.5. В подальшому визначили константу Міхаеліса-Ментена –  $k_M$  як тангенс кута нахилу отриманої прямої, яка складає:  $k_M=2,6$  мг/л.

Отриманий графік так само дозволив визначити максимальну швидкість приросту мікробудовостей :  $U_{max} = 0,05$  мг/л·добу.

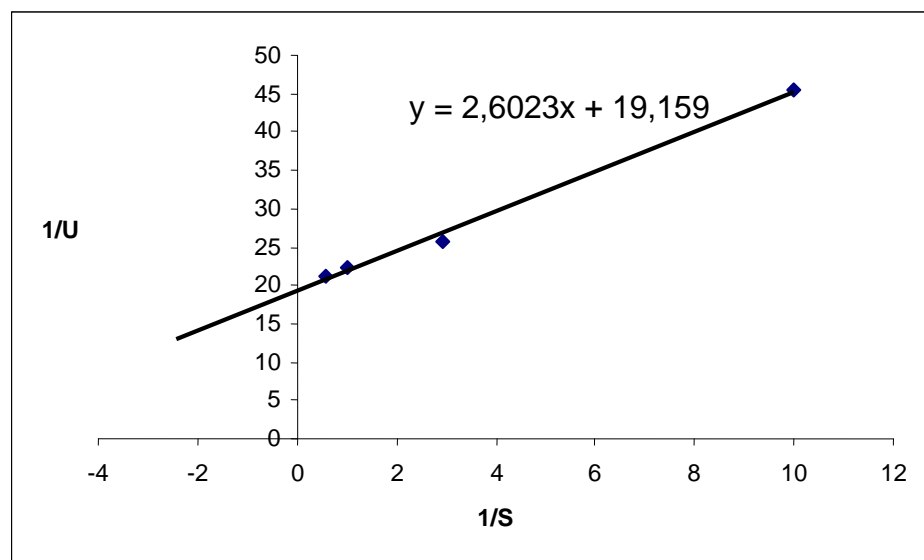


Рис. 3.6. Залежність оберненої швидкості приросту мікробудовостей від оберненої концентрації субстрату (вуглекислого газу)

### 3. 3. Визначення часу подвоєння концентрації клітин мікробудовостей

Важливим параметром, який характеризує приріст біомаси мікроорганізмів, а відтак кількість поглинутого вуглекислого газу - є час подвоєння концентрації клітин мікробіодоростей. Легко отримати зв'язок між константою приросту  $k$  і часом подвоєння  $t_d$  вмісту клітин біомаси.

Розглянемо випадок, коли коефіцієнт приросту  $k$  є постійний, тому швидкість росту є постійною, це - так званий експоненційний або логарифмічний період росту культури мікробіодоростей. Таким чином, з рівняння (3.17) бачимо, що за період часу який дорівнює часу подвоєння клітин мікробіодоростей ( $t_d$ ), початкова вміст клітин  $C_0$  збільшується до  $2C_0$ :

$$2C_0 = C_0 \exp(kt_d). \quad (3.28)$$

Звідси визначаємо час подвоєння маси клітин –  $t_d$ :

$$2 = \exp(kt_d);$$

$$\ln 2 = kt_d;$$

$$t_d = \ln 2/k;$$

$$\ln 2 = 0,693$$

$$t_d = 0,693/k$$

Для ілюстрації подвоєння біомаси мікробіодоростей підставимо значення  $t_d$  у рівняння (3.17):

$$C_t = C_0 \exp^{kt} \quad (3.29)$$

При  $t_1 = t_d = \ln 2/k$

$$C_{t_1} = C_0 \exp [k (\ln 2/k)]$$

$$C_{t_1} = C_0 \exp [\ln 2]$$

$$C_{t_1} = 2 C_0$$

При  $t_n = nt_d = n (\ln 2/k)$

$$C_t = C_0 \exp [k n (\ln 2/k)]$$

$$\exp [n (\ln 2)] = \exp[(\ln 2^n)] = 2^n$$

$$C_m = 2^n \cdot C_0$$

Отже, за проміжки часу, які кратні часу подвоєння концентрації клітин мікроводоростей в біомасі, зростання концентрації суспензії мікроводоростей відбувається в геометричній прогресії:  $C_0; 2C_0; 2^2C_0; 2^3C_0; \dots; 2^nC_0$ .

Час подвоєння біомаси визначають за збільшенням маси клітин мікроводоростей у певний проміжок часу і наступним кроком розраховують час подвоєння концентрації клітин мікроводоростей, тобто час генерації, адже час подвоєння важко визначити експериментально.

### 3.4. Визначення числа поділів і часу генерації клітин

Середній час генерації, або час подвоєння концентрації клітин можна знайти за наступним виразом, якщо за певний час ( $t$ ) густини клітин подвоюється в  $n$  кількість раз:

$$g = \frac{t}{n} \quad (3.30)$$

Для визначення часу генерації доцільніше використовувати концентрацію клітин, тобто кількість клітин в одиниці об'єму, а не густину клітин мікроводоростей. Таким чином, якщо спочатку кількість клітин мікроводоростей в одиниці об'єму середовища культивування складала  $C_0$ , то за певний період часу  $t$  після « $n$ » кількості поділів число клітин становитиме  $C_n = C_0 2^n$ . Отже, враховуючи це, можна знайти число поділів клітин. Прологарифмувавши цей вираз, отримуємо наступний:

$$\ln C(t) = \ln C_0(t_0) + n \ln 2 \quad (3.31)$$

Звідси число поділів клітин  $n$  дорівнює:

$$n = \frac{\ln C(t) - \ln C_0(t_0)}{\ln 2} \quad (3.32)$$

Час генерації, або час, необхідний для одного циклу ділення дорівнює:

$$g = \frac{t}{n} = \frac{\ln 2}{[(\ln C(t) - \ln C_0(t_0))/t]} \quad (3.33)$$

З рівняння (3.19) видно, що

$$k = \frac{\ln C_t - \ln C_0}{t} \quad (3.34)$$

Порівнюючи рівняння (3.33) і (3.34), бачимо, що в знаменнику виразу (3.33) стоїть питома швидкість збільшення числа клітин в одиниці об'єму суспензії мікроводоростей. Таким чином, середній час генерації становить:

$$g = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,693}{k} \quad (3.35)$$

У тому випадку, коли збільшення числа клітин пропорційне збільшенню клітинної маси,  $t_d = g$ .

Визначимо число поділів клітин “ $n$ ” і час генерації “ $g$ ” за чотирьох концентрацій вуглекислого газу.

У контрольному фотобіореакторі, при концентрації вуглекислого газу 0,1 мг/л, за 2 доби відбулося збільшення концентрації клітин від 0,115 до 0,141, отже:

$$n = (\ln 0,141 - \ln 0,115)/0,693 = 0,3$$

$$g = t/n = 2/0,3 \approx 7 \text{ діб.}$$

У другому фотобіореакторі, куди барботували повітря концентрація вуглекислого газу складала 0,34 мг/л, тут, за 7 діб відбулося збільшення концентрації клітин від 0,115 до 0,276, отже:

$$n = (\ln 0,276 - \ln 0,115)/0,693 = 1,26$$

$$g = t/n = 7/1,26 \approx 6 \text{ діб.}$$

У третьому фотобіореакторі, при концентрації вуглекислого газу 1,0мг/л, за 6 діб відбулося збільшення концентрації клітин від 0,115 до 0,391, таким чином:

$$n = (\ln 0,391 - \ln 0,115) / 0,693 = 1,77$$

$$g = t/n = 6 / 1,766 \approx 3 \text{ доби.}$$

У четвертому фотобіореакторі, при концентрації вуглекислого газу 1,7мг/л, за 3 доби відбулося збільшення концентрації клітин від 0,115 до 0,288, отже:

$$n = (\ln 0,288 - \ln 0,115) / 0,693 = 1,33$$

$$g = t/n = 3 / 1,33 \approx 2 \text{ доби.}$$

Як було згадано раніше, час подвоєння концентрації клітин мікроводоростей напряду залежить від факторів, що впливають на умови культивування, такі як температура, освітленість, перемішування або барботування газовою сумішшю, збалансованість живильного середовища, вміст вуглекислого газу (CO<sub>2</sub>) та інших оксидів, що містяться у промислових газових викидах. Так, час подвоєння концентрації клітин мікроводоростей для типу мікроводоростей *Chlorella*, за різними джерелами публікацій, становить в межах 10 - 30 годин [118,119]. Час подвоєння концентрації клітин мікроводоростей значно менший, він становить 1-2 години. Таким чином, середній час за який відбувається подвоєння числа клітин у культурі мікроводоростей - це час подвоєння. Він не є рівним часу генерації клітин, що відрізняється суттєво через нееквівалентність клітин мікроводоростей у культурі .

Отже, параметри, що найповніше можуть охарактеризувати приріст мікроводоростей, це час подвоєння густини “ $t_d$ ”, час генерації “ $g$ ” та питома швидкість росту “ $\mu$ ”.

### **3.5. Вивчення впливу температури на ефективність поглинання вуглекислого газу мікроводоростями**



Оскільки процес поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями протікає у кінетичній області, то на його інтенсифікацію впливають температура і інтенсивність освітлення (довжина світлової хвилі) для його інтенсифікації доцільно застосувати температуру. Саме за таких обставин створюються умови для інтенсивного розвитку мікроводоростей.

Тому дослідження впливу температури на ефективність поглинання вуглекислого газу мікроводоростями є актуальною задачею роботи.

Одним із завдань дослідження є вивчення впливу температури на процеси, які супроводжуються поглинанням вуглекислого газу із газового середовища клітинами мікроводоростей, іншими словами вивчення впливу температури на процес трансформації вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) у біомасу з використанням біологічних об'єктів.

Згідно опрацьованих літературних даних, більшість хлорофілвмісних мікроводоростей в тому числі і *Chlorella Vulgaris* відноситься до мезофільних мікроорганізмів. Таким чином, температура має суттєвий вплив на її приріст. Як і інші рослинні організми, вони потребують оптимального значення температурного параметру середовища існування.

Тобто для інтенсифікації процесу поглинання вуглекислого газу мікроводоростями, як і для інших організмів існує необхідність визначення максимально сприятливої оптимальної точки температурного режиму. Зміна цього температурного режиму призводить до пригнічення життєдіяльності мікроводоростей, потрапляння їх у режим сплячки, а в деяких випадках і загибелі.

Для визначення приросту біомаси мікроводоростей в залежності від впливу температури, за існуючими літературними даними було обрано температурний режим у межах якого проводили дослідження. Культуру мікроводоростей *Chlorella* культивували за різних температур при природньому освітленні протягом 14 діб у трьох фотобіореакторах об'ємом  $1,5 \text{ дм}^3$ . У першому температура складала  $20^\circ\text{C}$ , у другому -  $25^\circ\text{C}$  і  $36^\circ\text{C}$  у третьому. Для експерименту використовували базове живильне середовище, у яке вводили рівну кількість розчину із культурою мікроводоростей.

Результати кінетики експериментальних досліджень приросту біомаси мікроводоростей представлені на рисунку 3.7. Це є типові криві приросту, які дозволяють виділити чотири фази росту. Фази проходять у певній послідовності та зображені більшою або меншою мірою, виділяємо початкову, або лаг-фазу, лінійну фазу, стаціонарну фазу та фази осідання культури.

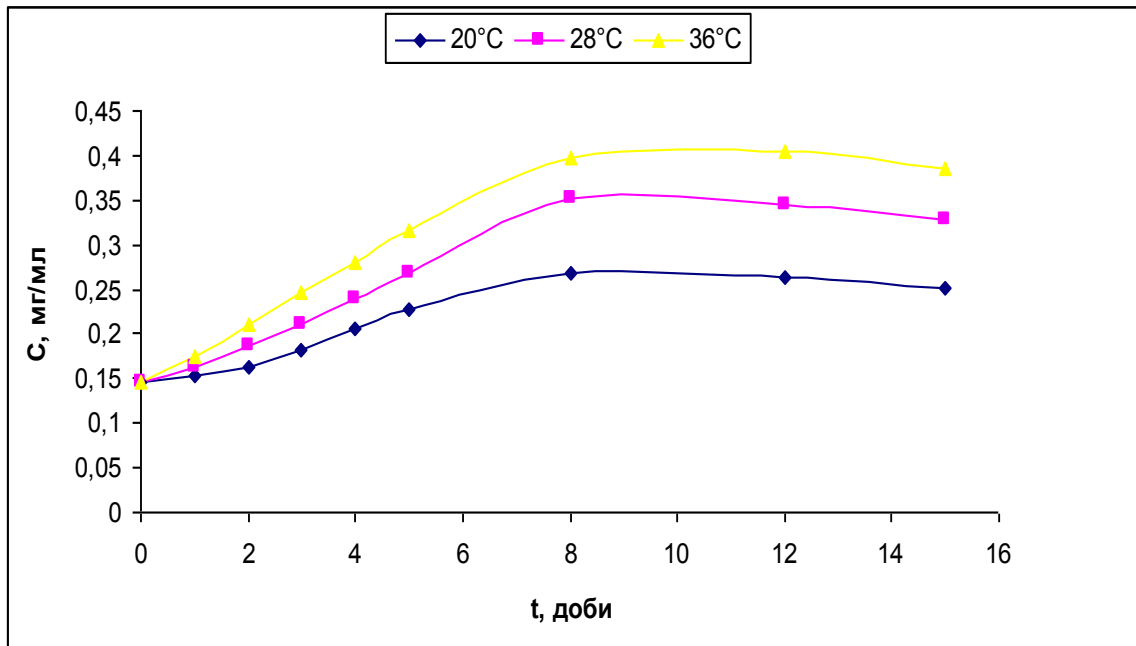


Рис. 3.7. Зміна концентрації клітин мікроводоростей в часі за відповідних температурах

Як видно з рисунку 3.7 кінетика приросту біомаси мікроводоростей суттєво залежить від температури. В межах досліджуваного інтервалу температур спостерігається позитивна динаміка приросту мікроводоростей. Застосовуючи уже відоме рівняння (3.36), яке добре описує отримані експериментальні криві:

$$C = C_0 e^{\pm kt} \quad (3.36)$$

де  $C_0$  – концентрація клітин в початковий момент часу  $t=0$ ,

$k$  - коефіцієнт приросту біомаси мікроводоростей.

Рівняння (3.36) дозволяє визначити значення коефіцієнта приросту –  $k$ , як тангенс кута нахилу прямої, після його логарифмування.

Отримавши прямі зміни логарифму вмісту клітин мікрободоростей в суспензії від часу, та за рівняннями, що їх описують знайшли значення коефіцієнтів приросту в межах досліджуваних температур.

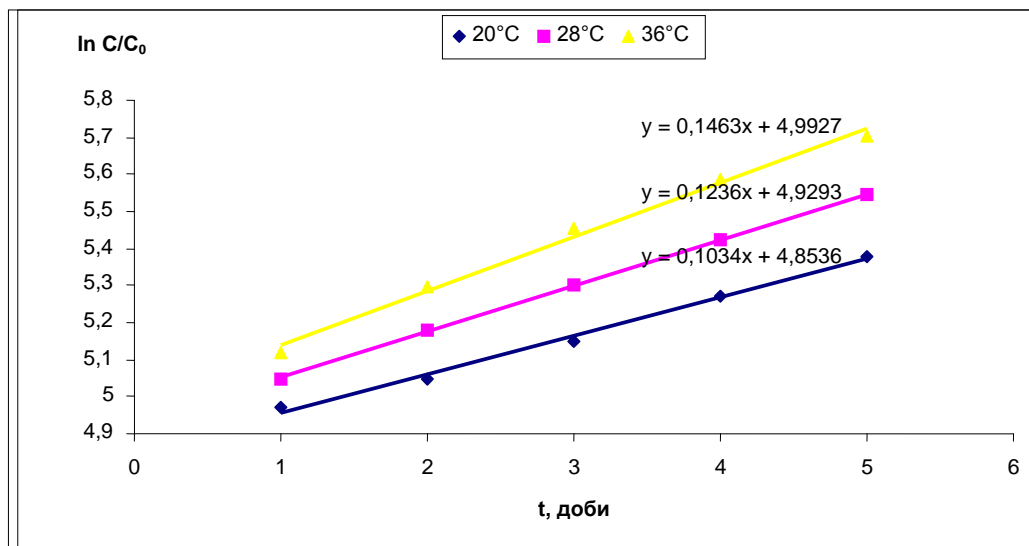


Рис. 3.8. Залежність зміни логарифму вмісту клітин мікрободоростей від часу за відповідних температур

Згідно рис. 3.8 коефіцієнт приросту біомаси мікрободоростей при досліджуваних значення температури дорівнює  $k_{20} = 0,10$  доба<sup>-1</sup>;  $k_{28} = 0,12$  доба<sup>-1</sup>;  $k_{30} = 0,15$  доба<sup>-1</sup> відповідно.

За отриманими даними побудовано графік залежності коефіцієнтів приросту біомаси мікрободоростей від температури.

Як видно з графіка коефіцієнт приросту біомаси описується експоненціальною залежністю, що добре узгоджується з літературними даними хімічної кінетики, рівнянням Арреніуса.

Результати перетворень зображено на рисунку 3.9.

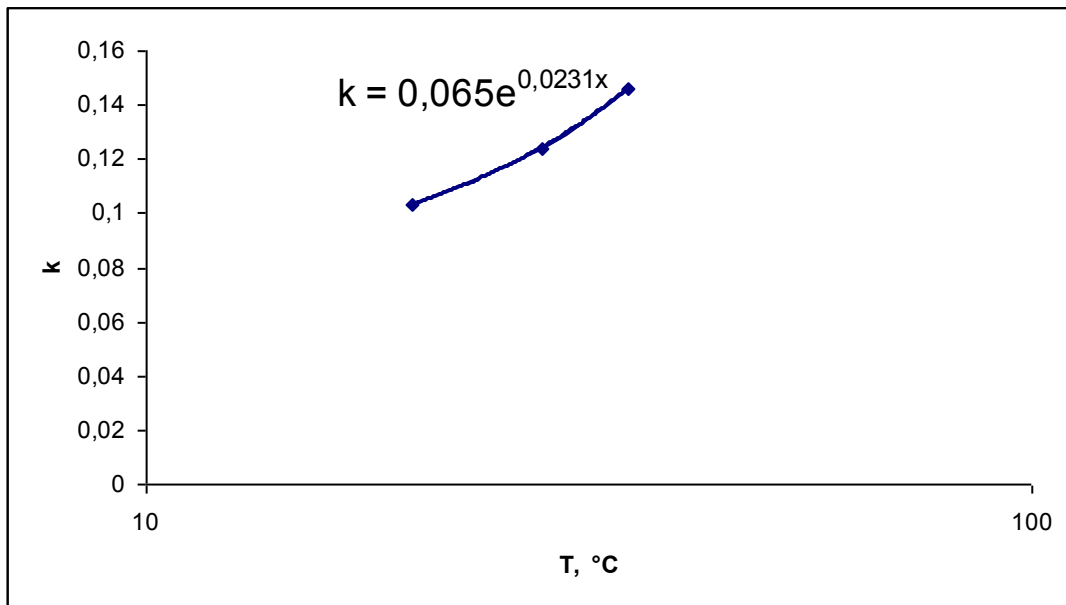


Рис. 3.9. Залежність коефіцієнту приросту -  $k$  біомаси мікроводоростей від температури

### 3.5.1. Визначення енергії активації реакції фотосинтезу в умовах експерименту

Через клітинну мембрану в області досліджуваних значень концентрацій вуглекислого газу у фотобіореакторі, кількість  $\text{CO}_2$  зменшується за лінійним законом від  $C_m$  до  $C_B$ . Швидкість транспорту вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) крізь одиницю площі клітинної мембрани описується:

$$\frac{dm_{\text{CO}_2}}{dt} = u = D_c \frac{C_m - C_B}{\delta}; \quad (3.37)$$

Концентрація води у внутрішньому об'ємі клітини є значною, а отже швидкість біохімічної реакції фотосинтезу пропорційна концентрації вуглекислого газу -  $C_B$  у внутрішньому об'ємі клітини мікроводорості:

$$u_p = kC_B; \quad (3.38)$$

В стаціонарних умовах, кількість вуглекислого газу, що проникає в клітину мікроводорості крізь мембрану, рівна кількості вуглекислого газу, що вступає в біохімічну реакцію фотосинтезу. Таким чином, дана рівність матиме вигляд:

$$\beta(C_m - C_B)_p = kC_B; \quad (3.39)$$

Визначивши із рівняння (3.38)  $C_B$  і підставивши його у рівняння (3.39) отримаємо вираз для визначення швидкості біохімічної реакції :

$$u_p = C_m \frac{k\beta}{k + \beta}; \quad (3.40)$$

Якщо швидкість реакції фотосинтезу більша за швидкість дифузії вуглекислого газу через клітинну мембрану:

$$k \gg \beta; \quad (3.41)$$

Тоді в знаменнику рівняння (3.42) нехтуємо величиною -  $\beta$ , а тому швидкість біохімічної реакції буде дорівнювати:

$$u_p = \beta C_m; \quad (3.42)$$

З рівняння (3.42) випливає, що швидкість біохімічної реакції визначається швидкістю транспорту вуглекислого газу крізь мембрану клітини (дифузійна кінетика).

Якщо ж швидкість реакції фотосинтезу буде значно менша від швидкості транспорту вуглекислого газу крізь клітинну оболонку;

$$k \ll \beta; \quad (3.43)$$

То в рівнянні (3.40) можна знехтувати величиною -  $k$ , тоді швидкість біохімічної реакції дорівнюватиме:

$$u_p = k C_m; \quad (3.44)$$

Тобто виходить, що швидкість біохімічної реакції фотосинтезу за участі мікроводоростей визначається швидкістю взаємодії води та вуглекислого газу.

Якщо швидкість біохімічної реакції фотосинтезу залежить від швидкості дифузії, то для інтенсифікації процесу дифузії необхідно застосовувати перемішування або барботування у нашому випадку, тобто необхідна інтенсифікація гідродинаміки. У випадку коли швидкість біохімічної реакції фотосинтезу залежить від швидкості взаємодії хімічних зв'язків інтенсифікувати процес покращивши гідродинаміку не вийде [126].

В даному випадку необхідне підвищення температури середовища. Температура майже не впливає на швидкість дифузії, натомість прискорюватиме швидкість біохімічної реакції фотосинтезу. Підвищення температури знижує

в'язкість середовища, де відбувається дифузія вуглекислого газу та збільшує кінетичну енергію молекул, що дифундують.

У процесах за участі біологічних об'єктів, які залежні від швидкості біохімічної реакції, залежить від температури описується наступним виразом:

$$u = kC^{\mu} e^{-\frac{E}{RT}}; \quad (3.45)$$

де  $k$  - константа швидкості біохімічної реакції фотосинтезу;  $C$  - концентрація реагуючих речовин;  $\mu$  - молекулярність реакції;  $E$  - енергія активації.

Залежність константи швидкості біохімічної реакції фотосинтезу –  $k$  від температури –  $T$  описується наступним рівнянням:

$$k = k_0 e^{-\frac{E}{RT}}; \quad (3.46)$$

Прологарифмувавши рівняння (3.46) отримаємо:

$$\lg k = \lg k_0 - \frac{E}{2,3RT} = \lg k - \frac{E}{4,575T} \quad (3.47)$$

Позначивши  $\lg k$  через  $B$ , а  $\frac{E}{4,575}$  через  $A$  дістанемо вираз:

$$\lg k = B - \frac{A}{T}; \quad (3.48)$$

Відомий під назвою рівняння Арреніуса.  $A$  і  $B$  - константи даної біохімічної реакції. Якщо за експериментальними даними побудувати графік залежності  $\lg k = f\left(\frac{1}{T}\right)$  то дана залежність описуватиметься прямою лінією, тангенс кута нахилу якої дозволить визначити величину  $A$ . Звідти визначаємо енергію активації.

Таким чином було побудовано наступний графік (3.10), звідки було визначено енергію активації біохімічної реакції за участі ферментів (фотосинтезу).  $E = 4,57$  Дж/моль. Мале значення енергії активації засвідчує про доцільність застосування процесу фотосинтезу для поглинання вуглекислого газу.

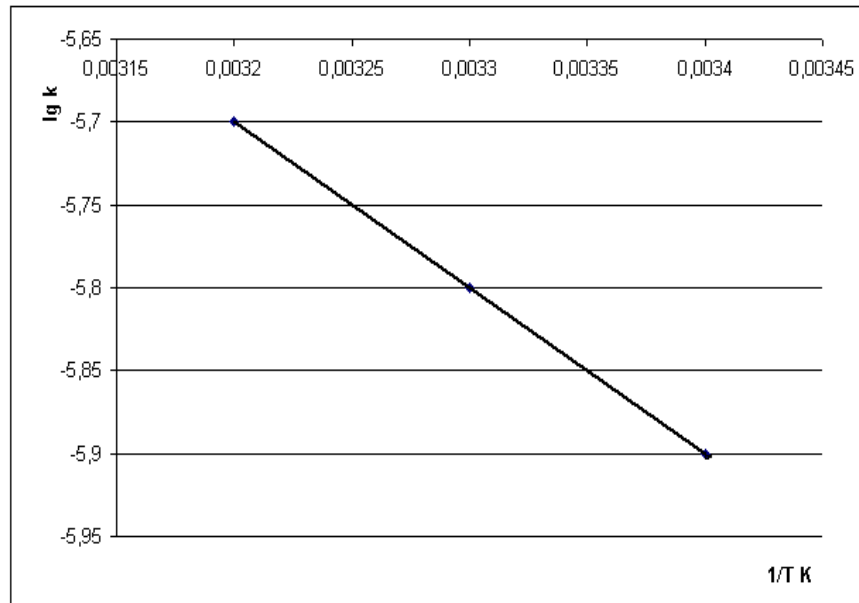


Рис. 3.10. Залежність логарифму коефіцієнту приросту -  $k$  від оберненої температури –  $1/T$

Результатом біохімічної реакції фотосинтезу та транспорту вуглекислого газу крізь клітинну мембрану є приріст біомаси мікробдоростей. Він пропорційний кількості поглинутого вуглекислого газу ( $CO_2$ ):

$$\frac{dC}{dt} \sim \frac{dM}{dt} \sim \frac{dm_{CO_2}}{dt}; \quad (3.49)$$

де  $\frac{dC}{dt}$  - швидкість приросту клітин мікробдоростей в середовищі;

$\frac{dM}{dt}$  - швидкість приросту біомаси мікробдоростей в середовищі;

$\frac{dm_{CO_2}}{dt}$  - швидкість поглинання вуглекислого газу.

Отже, значення коефіцієнту приросту біомаси -  $k$  пропорційне сумарному значенню коефіцієнта масопереносу -  $K$ :

$$k \sim K \quad (3.50)$$

### 3.6. Дослідження динаміки поглинання вуглекислого газу мікрободоростями в залежності від довжини світлової хвилі

Серед факторів інтенсифікуючих кінетичні процеси є температура, концентрація реагуючих речовин, а для фотокінетичних, як в даному випадку джерело світлової енергії.

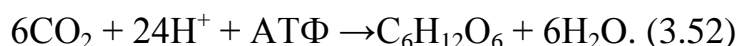
Швидкість приросту мікрободоростей, як було сказано раніше, згідно теорії фотосинтезу залежить від ряду чинників серед яких освітлення відіграє важливу роль. Оскільки процес поглинання вуглекислого газу планується проводити у промислових умовах при штучному освітленні тому важливо дослідити при яких довжинах хвиль у видимій області світла має місце найбільше поглинання мікрободоростями.

З досліджених літературних даних відомо, що існує дві групи реакцій фотосинтезу. Одна пов'язана з виділенням кисню ( $O_2$ ), фотодисоціацією води і транспортом електронів, називається світловою фазою, а друга – із відновленням вуглекислого газу  $CO_2$  до вуглеводю і не залежить від освітленості, це – темнова фаза.

Процесом, в ході якого з'являються енергонасичені молекули і аденозинтрифосфатні, АТФ-сполуки, називається світлова фаза фотосинтезу. Сумарне рівняння світлової фази фотосинтезу має вигляд:



Темнова фаза фотосинтезу протікає в хлоропласті. Загальне рівняння фотосинтезу має вигляд:



Таким чином, важливо було дослідити в якій області видимого світла має місце найбільше поглинання мікрободоростями світла. Для цього було відзнято спектр поглинання у видимій області водного розчину суспензії мікрободоростей



*Chlorella*, який зображений на рисунку (3.11). Для запису спектру проводили пробопідготовку, методом обробки суспензії мікродоростей ультразвуком.

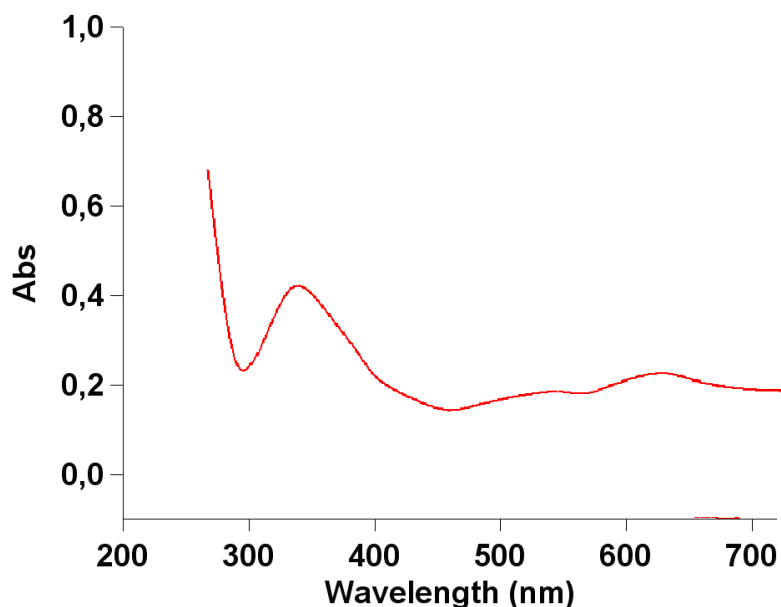


Рис.3.11. Спектр поглинання водного розчину досліджуваних хлорофілвмісних мікродоростей

Аналізуючи зображений спектр можна сказати, що найбільшу область поглинання мають довжини хвиль (340-400 нм) та (650-700 нм). Даним показникам спектра відповідає фіолетово-синій та червоний колір світла, тому є доцільним взяти до уваги саме ці спектри і проводити дослідження динаміки поглинання вуглекислого газу саме хлорофілвмісними мікродоростями.

Для визначення приросту біомаси мікродоростей в залежності від впливу освітлення різного спектру випромінювання, культуру зелених мікродоростей *Chlorella* культивували протягом 14 діб у чотирьох фотобіореакторах об'ємом 1,5 дм<sup>3</sup>. У першому фотобіореакторі було створено умови для надходження лише синього кольору світла, у другому – зеленого, у третьому – жовтого, у четвертому – червоного.

Для експерименту використовували базове живильне середовище, у яке вводили рівну кількість інокулянту із культурою мікродоростей *Chlorella*.

Подальше їх культивування призвело до збільшення кількості водоростей в фотобіореакторах, утворилась суспензія темно-зеленого кольору.

За раніше викладеними методиками експериментального дослідження, було отримано криві приросту мікробіодоростей в межах досліджуваного часу.

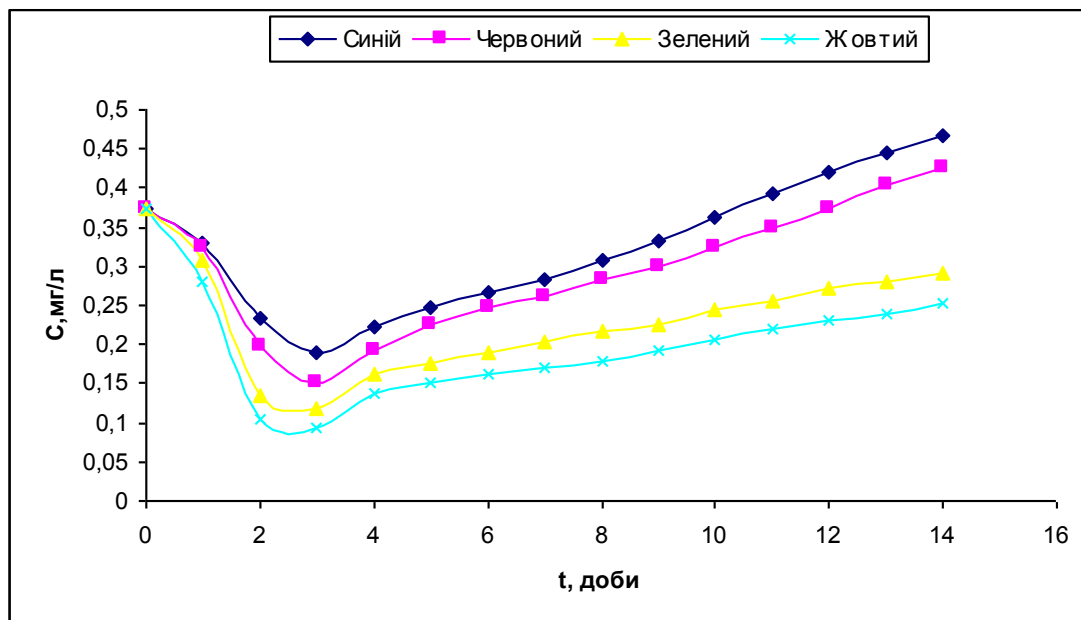


Рис. 3.12. Зміна концентрації клітин мікробіодоростей в часі при відповідних спектрах світла

Аналізуючи отримані графіки, важливо зауважити, що фаза пристосування (адаптації) для біореактора, який освітлювався синім та червоним кольором світла характеризується найменшою кількістю відмирання клітин мікробіодоростей та найбільшою інтенсивністю її приросту у наступних фазах. Це засвідчує ефективність застосування даних довжин хвиль у спектрах штучного освітлення, яке планується застосовувати при поглинанні вуглекислого газу мікробіодоростями та інтенсифікації процесу фотосинтезу у темновий період часу.

Як видно з рис. 3.12 інтенсивність поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікробіодоростями значно залежить від довжини світлової хвилі. Експериментальні криві добре описуються наступним відомим рівнянням:

$$C = C_0 e^{\pm kt} \quad (3.53)$$

де  $C$  – біжуча концентрація клітин в біомасі мікрободоростей,  
 $C_0$  – концентрація клітин в біомасі мікрободоростей у початковий момент часу  $t=0$ ,  
 $k$  - коефіцієнт приросту біомаси мікрободоростей.

В логарифмічних координатах рівняння (3.53) графічно має вигляд прямої лінії тангенс кута нахилу до якої дозволяє знайти коефіцієнт приросту –  $k$ . Результати перетворень зображено на рисунку 3.13.

Завдяки даним графічним залежностям визначили коефіцієнт приросту за відповідного спектру світла, як тангенс кута нахилу експериментальних прямих зображених на рисунку 3.13.

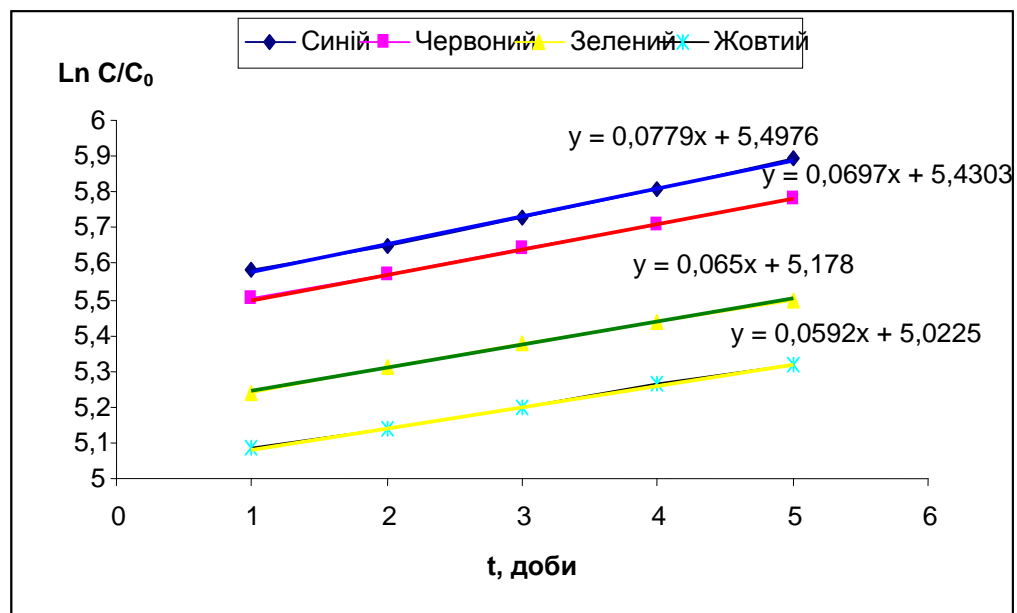


Рис. 3.13. Залежність зміни логарифму вмісту клітин мікрободоростей від часу за відповідних довжин світлових хвиль

Аналітичні залежності для визначення концентрацій мікрободоростей в часі певного світлового спектру мають вигляд:

- для синього спектру:  $C = C_0 e^{0,0779 t}$
- для червоного спектру:  $C = C_0 e^{0,0697 t}$
- для зеленого спектру:  $C = C_0 e^{0,065 t}$
- для жовтого спектру:  $C = C_0 e^{0,0592 t}$

На основі отриманих значень коефіцієнтів приросту побудовано графічну залежності коефіцієнту приросту від довжини світлової хвилі рисунок 3.12.

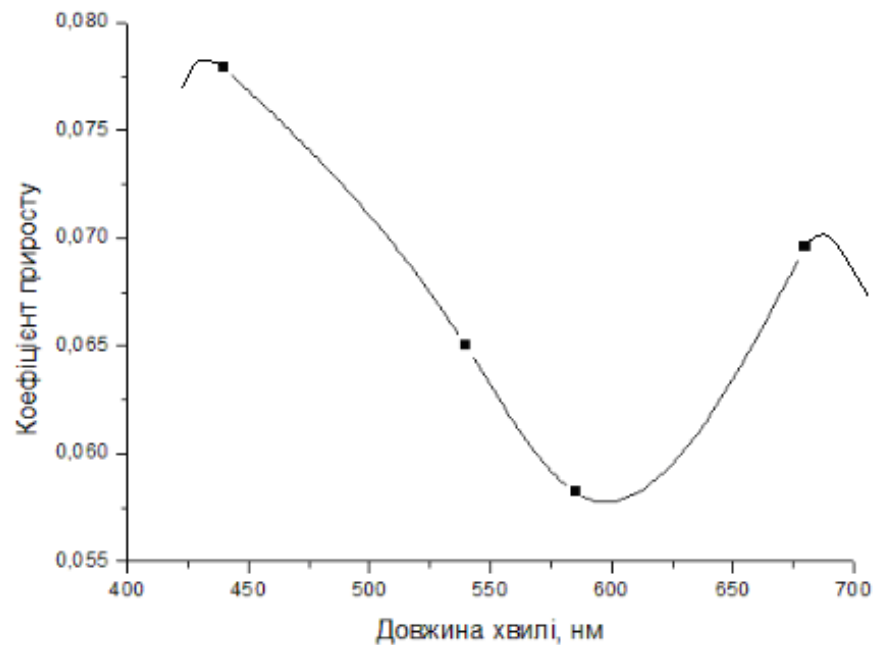


Рис. 3.14. Залежність коефіцієнту приросту від довжини світлової хвилі

Дана криволінійна залежність описується рівнянням (3.54), з значенням коефіцієнту детермінації  $R^2=0,95$ .

$$k = 8,2 \cdot 10^{-7} \lambda + 9,02 \cdot 10^{-4} \lambda + 0,3289; \quad (3.54)$$

де  $\lambda$  - довжина світлової хвилі.

### ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. Розроблені теоретичні основи масообміну процесу біологічного поглинання вуглекислого газу мікроводоростями.
1. Вивчено основні умови приросту мікроводоростей та встановлено фази росту в умовах експериментальних досліджень.
2. Запропоновано механізм транспорту вуглекислого газу у внутрішній об'єм клітин мікроводоростей.
3. Розглянуто етапи механізму та кінетику процесу біологічного очищення газу від CO<sub>2</sub>.
4. Вивчено динаміку приросту біомаси мікроводоростей в залежності від концентрації вуглекислого газу в середовищі культивування мікроводоростей.
5. Кінетика поглинання вуглекислого газу мікроводоростями описується рівнянням Міхаеліса-Ментен.
6. За приведеними методиками визначено час поділів клітин, час генерації, швидкість росту популяцій мікроводоростей, часу подвоєння їх біомаси.
7. Вивчено вплив температури на динаміку поглинання вуглекислого газу мікроводоростями, що дозволило розрахувати коефіцієнти приросту -  $k$ , а також температурний коефіцієнт реакції фотосинтезу.
8. Досліджено вплив довжини світлової хвилі на динаміку приросту мікроводоростей з поглинанням вуглекислого газу. Отримано відповідну аналітичну залежність  $k=f(\lambda)$  коефіцієнту приросту мікроводоростей від довжини світлової хвилі.

## РОЗДІЛ 4

### **ВСТАНОВЛЕННЯ ВИДУ ІНГІБІЮВАННЯ ПРОЦЕСУ ПОГЛИНАННЯ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ ХЛОРОФІЛВМІСНИМИ МІКРОВОДОРОСТЯМИ ДИОКСИДОМ СУЛЬФУРУ**

В розділі було доведено зворотнє інгібіювання процесу фотосинтезу хлорофілвмісними мікроводоростями *Chlorella* диоксидом сульфуру ( $\text{SO}_2$ ). Власне встановлення виду інгібіювання дозволило вести подальші дослідження з метою розроблення технології поглинання парникових газів. Таким чином отриманий результат дозволяє впливати на зниження кількості антропогенних факторів, які спричиняють зміни клімату, що є основою сучасних екологічно безпечних технологій.

#### **4.1. Дослідження впливу диоксиду сульфуру на процеси поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями**

Основною умовою фотосинтезу є наявність молекул вуглекислого газу. У промисловості він утворюється в результаті спалювання палива, рідкого, твердого або газоподібного. У продуктах спалювання палива також можуть міститися й супутні оксиди, такі як, наприклад, диоксид сульфуру ( $\text{SO}_2$ ), оксиди нітрогену тощо. У промислових газових викидах він може міститись в результаті спалювання палива, оскільки в природних покладах палива містяться сполуки сірки. За молекулярною будовою диоксид сірки та диоксид сульфуру подібні. Існує прирущення, що під час транспорту вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) крізь мембрану клітини мікроводорості, ферментна система клітини слабо розрізняє дані молекули оксидів, якщо вони проникають за механізмом активного транспорту. Проте основна кількість цих оксидів найімовірніше проникає у внутрішній об'єм клітини за механізмом пасивного транспорту. А тому, молекули диоксиду сульфуру ( $\text{SO}_2$ ), потрапивши у внутрішній об'єм клітини мікроводорості, блокують протікання біохімічної реакції фотосинтезу. Таким чином, стало

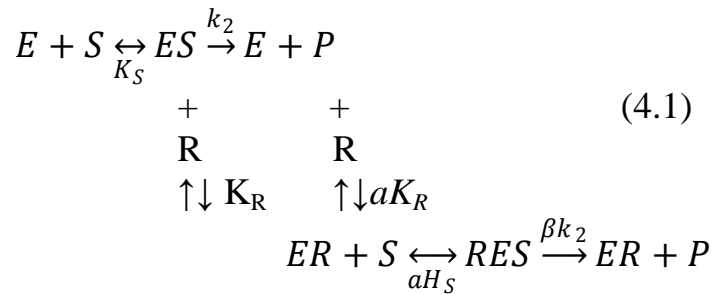
необхідно вивчити більш детально процес поглинання вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) хлорофілвмісними мікродоростями за присутності диоксиду сульфуру ( $\text{SO}_2$ ), що адекватно вивченню процесу очищення промислових газових викидів хлорофілвмісними мікродоростями.

Як було досліджено у попередньому розділі (розділ 3), поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними водоростями описується кінетикою ферментативних реакцій. Тому, згідно теорії ферментативних реакцій на швидкість протікання біохімічних процесів впливає не лише природа та концентрація субстрата (вуглекислого газу) і ферменту, а й присутність активаторів та інгібіторів процесу поглинання вуглекислого газу.

Речовини, що здатні гальмувати ферментативні реакції, називаються інгібіторами. В літературі містяться дані стосовно каталітичної дії ферментів, їх специфічності (абсолютна, стереохімічна, групова та ін.) та лабільності (мінливості). Активність ферменту може змінюватись під дією температури, показника рН і, головним чином, інгібіторів та активаторів. Це пов'язано із природою функціональних груп активного центру ферменту та механізму дії молекул ферменту при дослідженні впливу інгібіторів на ферментативні реакції. Ферментативні реакції в клітині регулюються інгібіюванням ферментів специфічними клітинними компонентами.

Розрізняють зворотне і незворотне інгібіювання. Інгібітори, які знижують активність ферментів приєднуючись до тих самих функціональних груп активних центрів, як і субстрат, називаються конкурентними. Інгібітори, які знижують активність ферментів приєднуючись до інших функціональних груп, називаються неконкурентними. Підвищуючи концентрацію субстрату, у нашому дослідженні - це вуглекислий газ, можна керувати конкурентним інгібіюванням, тобто послабити його або усунути. Натомість, концентрація субстрату не впливає на неконкурентне інгібіювання. Отже важливим етапом дослідження було з'ясувати з яким саме видом інгібіювання ми маємо справу.

Найпростіша схема впливу деякої речовини  $R$  (інгібітора чи активатора) на ферментативне перетворення субстрата  $S$  (вуглекислого газу) в продукт  $P$  (біомасу), включає зворотню взаємодію добавки -  $R$  з ферментом або фермент-субстратним комплексом. У вигляді схеми це можна зобразити:



Через  $K_S$  і  $K_R$  позначені константи нестійкості комплексів ферменту з субстратом  $S$  і з добавкою  $R$ . Із загальних термодинамічних міркувань очевидно, що для замкнутої системи рівновага (4.1) константи нестійкості потрійного комплексу  $RES$  при його розпаді за двома із можливих напрямків повинні відрізнятися від констант нестійкості відповідних подвійних комплексів в одинакове число разів, що і враховується коефіцієнтом  $\alpha$ . Якщо розпад фермент-субстратного комплексу з утворенням продукту відбувається з константою швидкості  $k_2$ , потрійний комплекс може перетворюватись з виділенням того ж продукту з іншою константою швидкості  $\beta k_2$ . Величина  $\beta$  визначає характер впливу речовини яка супутня чи яку додали: при  $\beta > 1$  вона прискорює реакцію і називається активатором (А); при  $\beta < 1$  реакція сповільнюється і добавка називається інгібітором (І), а випадок коли  $\beta = 0$  називається повним інгібіюванням.

Кінетичну обробку схеми (4.1) проводять в припущенні про установлення всіх рівноваг в системі і дотримання не тільки умови  $[S] > [E_0]$ , але і нерівності  $[R] > [E_0]$ . Це дає можливість не враховувати розподіл субстрата і добавки по різних комплексах, а розглядати лише матеріальний баланс за ферментом, у існуючому та вільному виді і в комплексах  $ES$ ,  $ER$  і  $RES$ :



$$[E_0] = [E] + [ES] + [ER] + [RES] \quad (4.2)$$

Вираження концентрації комплексів через відповідні константи нестійкості з залежності (1.2) можна знайти концентрацію вільної форми фермента

$$[E] = \frac{\alpha K_R K_S [E_0]}{\alpha K_R K_S + \alpha K_R [S] + [R][S] + \alpha K_S [R]}; \quad (4.3)$$

і далі – концентрація комплексів

$$[ES] = \frac{\alpha K_R [E_0][S]}{\alpha K_R K_S + \alpha K_R [S] + [R][S] + \alpha K_S [R]}; \quad (4.4)$$

$$[RES] = \frac{[E_0][S][R]}{\alpha K_R K_S + \alpha K_R [S] + [R][S] + \alpha K_S [R]}. \quad (4.5)$$

Загальна швидкість перетворення субстрата в продукт за схемою (4.1) складається із швидкостей двох паралельних стадій:

$$\begin{aligned} -\frac{d[S]}{d\tau} &= k_2[ES] + \beta k_2[RES] \\ &= \frac{k_2 \alpha K_R [E_0][S] + \beta k_2 [E_0][S][R]}{\alpha K_R K_S + \alpha K_R [S] + [R][S] + \alpha K_S [R]}. \end{aligned} \quad (4.6)$$

Провівши перетворення в знаменнику і розділивши численник і знаменник на  $(\alpha K_R + [R])$ , отримуємо загальний вираз для початкової швидкості ферментативної реакції, яка відбувається в присутності стороннього активатора  $N_xO_y$  або інгібітора  $SO_2$ :

$$v_0 = \frac{k_2 \frac{\alpha K_R + \beta [R]}{\alpha K_R + [R]} [E_0][S_0]}{\alpha K_S \frac{K_R + [R]}{\alpha K_R + [R]} + [S_0]} \quad (4.7)$$

Рівняння (4.7) є дробовою раціональною функцією, аналогічною рівнянню Міхаеліса-Ментен. Зокрема, рівняння (4.7) може бути лінеаризоване в координатах Лайнуівера-Берка, причому в серії експериментів із змінним значенням  $[R]$  при постійному  $[E_0]$  повинен отримуватися пучок прямих, які пересікаються у першому, другому або третьому квадрантах в точці з координатами:

$$\frac{1}{S_0} = \frac{1}{K_S} \cdot \frac{\beta - 1}{\alpha - \beta} \quad \text{і} \quad \frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{max}} \frac{\alpha - 1}{\alpha - \beta} \quad (4.8)$$

де,  $v_{max} = k_2[E_0]$ .

Для вивчення динаміки поглинання вуглекислого газу мікроводоростями за присутності аніону  $\text{HSO}_3^-$  оскільки у водному середовищі диоксиду сульфуру взаємодіє з водою, то відповідно це адекватно визначення приросту біомаси мікроводоростей в залежності від впливу диоксиду сульфуру. За літературними даними було обрано концентрації у межах яких проводили дослідження. Культуру мікроводоростей *Chlorella* барботували за температури  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  при природньому освітленні протягом 12 діб у фотобіореакторах  $1,5 \text{ дм}^3$  в об'ємі з присутністю йонів  $\text{HSO}_3^-$ .

У водному середовищі засвоєння диоксиду сульфуру мікроводоростями як зазначалося раніше проходить у вигляді йону  $\text{HSO}_3^-$ . Тому у середовище культивування вносили необхідну кількість аніону  $\text{HSO}_3^-$ . Концентрація  $\text{HSO}_3^-$  у першому фотобіореакторі складала  $0,0001 \text{ мг/мл}$ ; у другому -  $0,0002 \text{ мг/мл}$ ; у третьому -  $0,001 \text{ мг/мл}$ ; у четвертому -  $0,002 \text{ мг/мл}$ ; у п'ятому -  $0,003 \text{ мг/мл}$ ; у шостому -  $0,004 \text{ мг/мл}$  відповідно і контрольний, який не містив  $\text{HSO}_3^-$ .

Водорості барботували повітрям з постійним вмістом вуглекислого газу, за однакової кількості відповідного спектру світла. Температура середовища барботування становила  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Відбір проб з розчину біомаси мікроводоростей здійснювали кожен день. Визначення концентрації клітин мікроводоростей в біомасі проводили фотоколориметричним методом див. (розділ 2).

На основі експериментальних даних було побудовано графіки зміни концентрації мікроводоростей в часі при різних значеннях інгібітора – аніону  $\text{HSO}_3^-$  в суспензії при одноразовому введенні (рис.4.1). Отримані дані свідчать про те, що вміст аніону  $\text{HSO}_3^-$  впливає на концентрацію клітин мікроводоростей у порівнянні з контрольним зразком: у випадку зростання його концентрації, приріст біомаси мікроводоростей зменшується. У контрольному зразку, натомість, спостерігається її збільшення. Тому, доцільним є припустити, що диоксид сульфуру суттєво впливає на приріст мікроводоростей та слід підтвердити припущення, що виступає в ролі інгібітора, явища поглинання вуглекислого газу (фотосинтезу).

Починаючи з концентрації 0,001 мг/мл рисунок 4.1 спостерігається чітке пригнічення приросту біомаси мікроводоростей. Оскільки, ми не досягли повного відмирання мікроводоростей, то при подальшому культивуванні мікроводоростей вони почали відновлюватися та їх вміст після дванадцятої, тринадцятої доби починає збільшуватися (Рис. 4.1.).

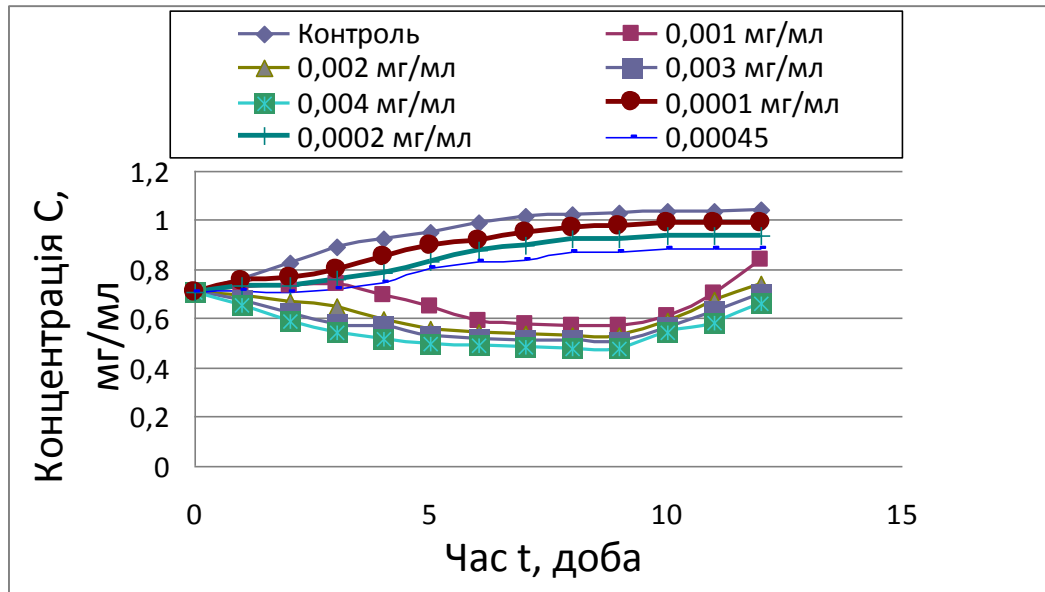


Рис. 4.1. Зміна концентрації клітин мікрободоростей в часі за відповідного значення вмісту інгібітора

#### 4.2. Визначення коефіцієнту приросту

Детальніший аналіз даних на рис. 4.1 демонструє зміну чисельності клітин мікрободоростей в досліджуваній проміжок часу в умовах дослідження, як зазначалося раніше, визначається кількістю народжених та відмерлих клітин.

$$k = (\gamma - \delta), \quad (4.9)$$

де  $k$  - коефіцієнт приросту;

$\gamma$  - коефіцієнт розмноження;

$\delta$  - коефіцієнт відмирання;

або

$$\frac{dC}{dt} = kC \quad (4.10)$$

В момент часу  $t = 0$  чисельність клітин мікрободоростей складає  $C=C_0$ . Розв'язок диференціальне рівняння після інтегрування двох його частини:

$$\int_{C_0}^C \frac{dC}{C} = \int_0^t k dt \quad (4.11)$$

Має вигляд

$$C = C_0 e^{kt} \quad (4.12)$$

Дане рівняння в логарифмічних координатах дозволяє визначити коефіцієнт приросту –  $k$ .

$$\ln \frac{C}{C_0} = kt \quad (4.13)$$

Аналізуючи експериментальні дані досліджень представлені на рис.4.1, можемо стверджувати, що графічно розв'язок рівняння (4.12) представляється кривими на ньому.

Після підстановки експериментальних даних у рівняння (4.13) отримуємо графічну залежність (рис. 4.2, рис. 4.3), яка дозволяє визначити коефіцієнт приросту. Для перших чотирьох кривих рис. 4.1 швидкість розмноження більше швидкості відмирання.

Експериментальні дані досліджень (рис. 4.1), в координатах  $\ln \frac{C}{C_0} = f(t)$ , графічно представлені прямими на рис. 4.2 і 4.3.

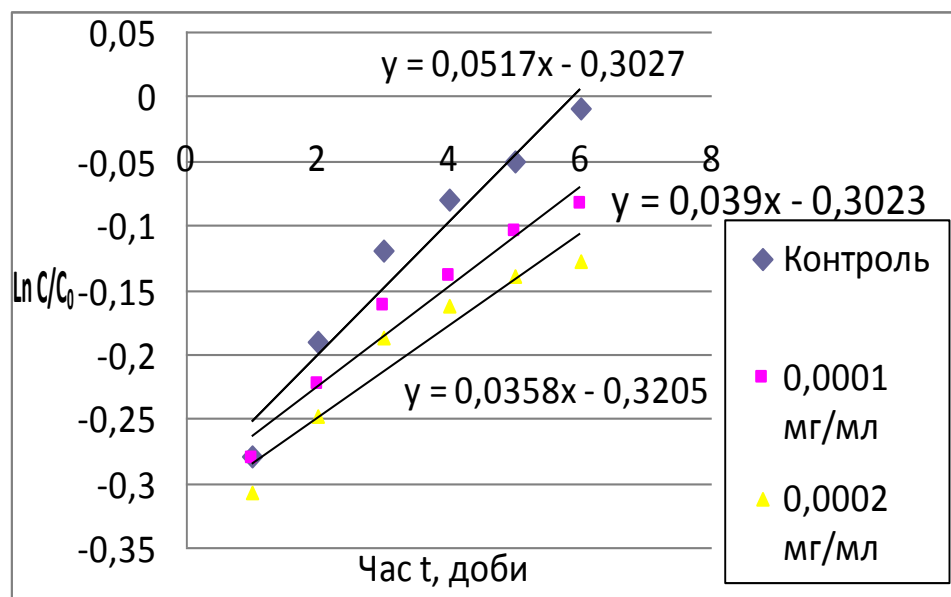


Рис. 4.2. Залежність логарифму вмісту клітин мікроводоростей від часу за відповідних концентрацій  $\text{HSO}_3^-$

Коефіцієнт приросту, як слідує з рис. 4.2 може бути додатнім  $k > 0$ , за умови дії певної концентрації негативного зовнішнього чинника (інгібітору фотосинтезу) може набувати відємного значення  $k < 0$ , рис. 4.3, а також бути рівним нулю. При концентрації інгібітора  $x=0$ , концентрація мікроводоростей збільшується в часі і коефіцієнт приросту є додатнім і дорівнює  $k = 0,0517 \text{ доба}^{-1}$  (рис. 4.2). На цьому рисунку всі значення коефіцієнту приросту -  $k$  додатні. Тобто вміст клітин мікроводоростей в часі зростає і коефіцієнт приросту відповідно становить  $k_1 = 0,0517 \text{ д}^{-1}$ ;  $k_2 = 0,039 \text{ д}^{-1}$ ;  $k_3 = 0,035 \text{ д}^{-1}$  (рис. 4.2).

За значень концентрацій  $\text{HSO}_3^-$  (рис. 4.3): 0,001 мг/мл; 0,002 мг/мл; 0,003 мг/мл; 0,004 мг/мл, величина числа клітин у біомасі з часом спадає, коефіцієнти приросту менші за нуль  $k < 0$ . Числові значення цих коефіцієнтів відповідно становлять :  $k_4 = - 0,0563 \text{ д}^{-1}$ ;  $k_5 = - 0,0543 \text{ д}^{-1}$ ;  $k_6 = - 0,0537 \text{ д}^{-1}$ ;  $k_7 = - 0,0406 \text{ д}^{-1}$ .

Таким чином інгібуючі властивості диоксид сульфуру очевидні.

Нарешті логічним є встановлення такої концентрації інгібітора, за якої приріст стає постійною величиною, або іншими словами, коли коефіцієнт приросту

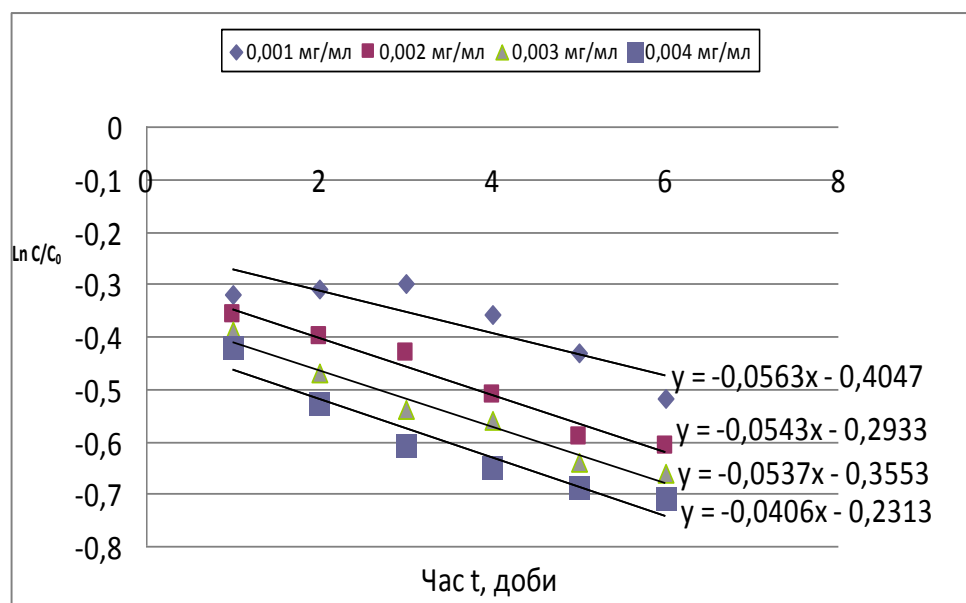


Рис. 4.3. Залежність зміни логарифму вмісту клітин мікроводоростей від часу за відповідних концентрацій  $\text{HSO}_3^-$

дорівнює нулю,  $k = 0$ . Значення цієї концентрації стане можливим визначити, якщо побудувати графічну залежність  $k=f(x)$ .

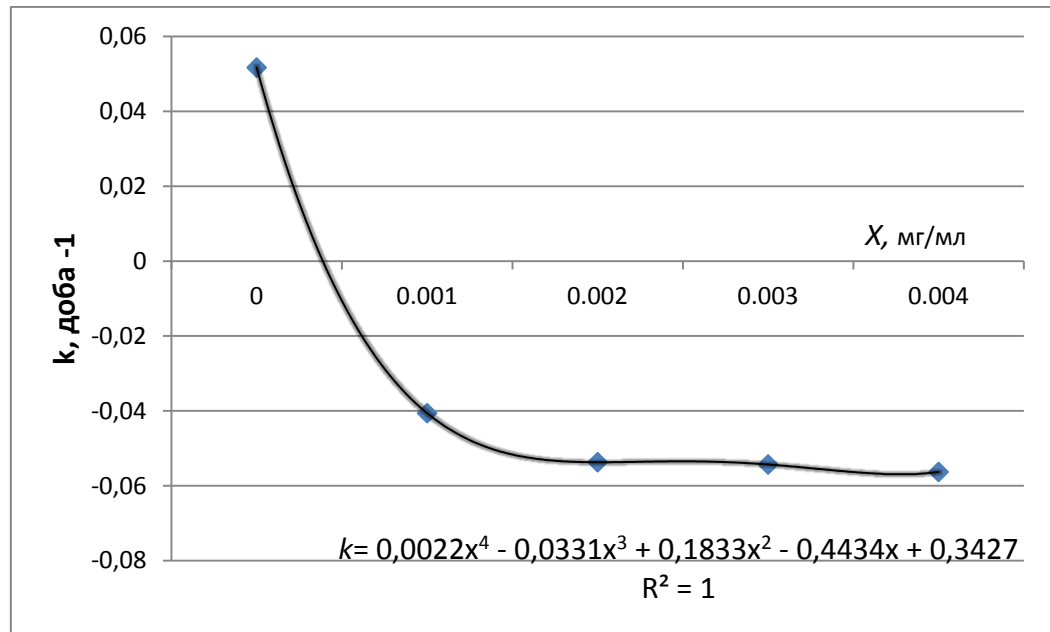


Рис. 4.4. Графік залежності коефіцієнту приросту від концентрації інгібітора

Використовуючи значення коефіцієнтів приросту, які були отримані раніше за відповідних значень концентрацій інгібітора отримали криву на графіку (4.4), аналітичний вираз якої представлений рівнянням (4.14).

$$k = 0,0022x^4 - 0,0331x^3 + 0,1833x^2 - 0,4434x + 0,3427, \quad (4.14)$$

де  $x$  – концентрація аніону  $\text{HSO}_3^-$

Рівняння (4.14) вирішували за допомогою пакета прикладних програм Excel та знаходили значення концентрації диоксиду сульфуру за якого коефіцієнт приросту рівен нулю  $k = 0$ .

Розраховане значення концентрації аніону  $\text{HSO}_3^-$  за якої значення коефіцієнту приросту рівне нулю становить 0,00045 мг/мл. Це те максимальне значення концентрації аніону  $\text{HSO}_3^-$  в середовищі барботування, при якому

проходить процес фотосинтезу, тобто має місце поглинання  $\text{CO}_2$  та постійний приріст біомаси мікроводоростей. Чисельність клітин хлорофілвмісних мікроводоростей не змінюється, залишається на початковому рівні і відбувається процес фотосинтезу з утворенням біомаси. За даної концентрації побудували криву приросту, яка зображена на рис. 4.1. При значеннях концентрацій аніону  $\text{HSO}_3^-$  менших від розрахованого за рівнянням (4.14) можливий приріст біомаси мікроводоростей та відповідно інтенсивніше поглинання вуглекислого газу. Зазначимо, що при цьому  $k > 0$  і дана модель актуальна у реальному процесі лише за певного значення часу.

Таким чином, в дисертаційному дослідженні вирішено, ще одне із завдань, суть якого полягає в розрахунку такого співвідношення компонентів та умов, які б дозволили забезпечити ефективне поглинання вуглекислого газу в присутності диоксиду сульфуру та досягти підвищення ефективності очищення промислових газових викидів [145,146].

Експериментально доведено поглинання мікроводоростями двоокису вуглецю при співвідношенні  $\text{CO}_2:\text{SO}_2$  не менше 10:1.

#### **4.3. Встановлення виду інгібування процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними водоростями**

В подальшому дослідженні важливим було дослідити тип інгібування диоксидом сульфуру процесу поглинання вуглекислого газу мікроводоростями, тому що у живій клітині інгібування ферментів і їх системи є важливими чинником, що регулює метаболізм і відповідає за пристосування до умов фотосинтезу.

Найвдалішим випадком інгібування є зворотній вплив інгібітора на ферментативні перетворення субстрату  $\text{CO}_2$  у продукт біомаси, зі зворотньою взаємодією інгібітора та ферментсубстратного комплексу.

Цікавість викликають обидва варіанти інгібування, які, як згадувалось вище, отримали назву конкуретне і неконкуретне. В цих випадках константу



рівноваги з інгібітором позначимо -  $K_I$ . Повне конкурентне інгібіювання має місце, коли інгібітор перешкоджає утворенню ферментсубстратному комплексу, тобто досягнення субстратом активного центру ферменту стає неможливим. Кінетичний опис повного конкурентного інгібіювання зображається наступним рівнянням:

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_S \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [S]}, \quad (4.15)$$

де  $K_I$  – константа нестійкості комплексу;  $S$  – концентрація субстрату, вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ );  $I$  – концентрація інгібітора, діоксиду сульфуру ( $\text{SO}_2$ );  $V_{max}$  – максимальна швидкість приросту мікроводоростей;  $K_S$  – константа насиченості.

Залежність (4.15) має вигляд рівняння Міхаеліса-Ментена, причому змінна лише константа  $K_M$ , а  $V_{max}$  залишається без змін.

$$K_M = K_S + \frac{K_S}{K_I} [I], \quad (4.16)$$

де  $K_M$  – константа Міхаеліса-Ментен.

Це говорить про те, що при будь-якій концентрації інгібітора, (аніону  $\text{HSO}_3^-$ ) експериментальні дані залежності  $\frac{1}{V_{max}} = f\left(\frac{1}{S}\right)$  повинні утворювати в координатах Лайнуівера-Берка пряму, яка пересікає вісь в точці  $\frac{1}{V_{max}}$ . В серії експериментів при різних значеннях концентрацій інгібітора виходитимуть прямі (рис. 4.6), що перетинаються в одній точці на осі ординат та відсікають відрізок  $\frac{1}{V_{max}}$ .

Оскільки кожна з прямих відсікає на осі абсцис відрізок рівний  $-\frac{1}{K_M}$ , тоді із знайдених цим способом значень  $K_M$  легко знайти  $K_S$  і  $K_I$  будуючи залежність в координатах  $K_M = f(I)$

На противагу конкурентному інгібіюванню, неконкурентне понижує активність ферменту не займаючи його активного центру, тобто не запобігає

утворенню ферментсубстратного комплексу. Математичний опис неконкурентного інгібування має вигляд [143]:

$$V = \frac{V_{max} S \frac{1}{1+\frac{[I]}{K_I}}}{K_S + [S]} \quad (4.17)$$

Дане рівняння (4.17) подібне до рівняння ферментативної кінетики Міхаеліса-Ментен, але в цьому випадку швидкість залежить від концентрації інгібітора  $\frac{1}{V_{max}} = f(I)$ .

В координатах Лайнуівера-Берка в дослідях з різними концентраціями інгібітора [I] отримуємо низку прямих, які пересікаються однією точкою  $-\frac{1}{K_S}$  на осі абсцис (рис. 4.5). В серії експериментів з визначення  $\frac{1}{V_{max}}$  при різних значеннях концентрації інгібітору [I] і постійних [S] і [E] виходить пряма  $\frac{1}{V_{max}} = f(I)$ , де [E] – концентрація фермента.

За рівнянням:

$$\frac{1}{V_{max}} = \frac{1}{k_2 E_0} + \frac{1}{k_2 K_1 E_0} C [I] \quad (4.18)$$

є можливим визначити константу нестійкості  $K_I$ .

На даному етапі досліджень, важливо було встановити конкурентне чи неконкурентне інгібування процесу. Для цього, обробивши експериментальні дані згідно представленої теоретичної бази, отримали графіки залежності в координатах  $1/V$  від  $1/S$  (рис. 4.5).

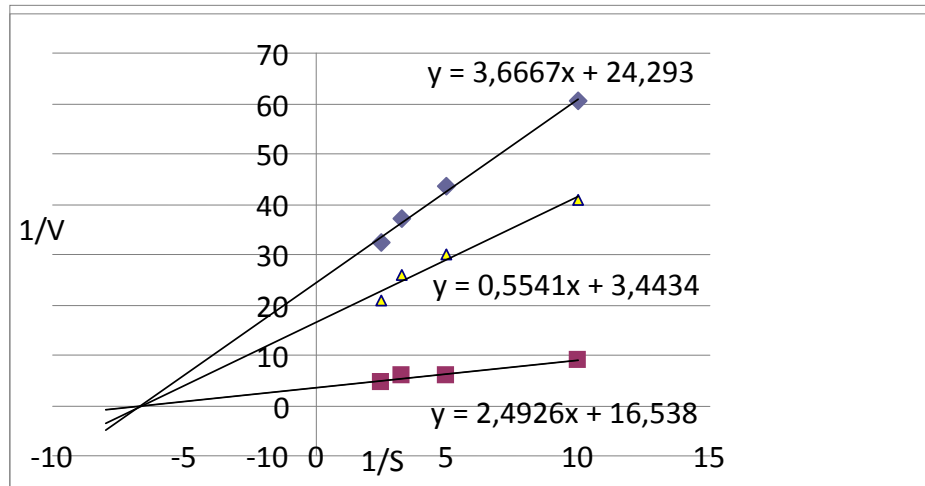


Рис. 4.5. Графік Лайнуівера-Берка для визначення типу інгібування в досліджуваному об'єкті

Порівнюючи літературні дані – графік Лайнуівера-Берка (рис. 4.6 (б)) з побудованою графічною залежністю (рис. 4.5) за експериментальними даними (рис.4.1), можна констатувати їх подібність.

Тому вважаємо, що отримані результати підтверджують неконкурентне інгібування. Той самий випадок, коли інгібування відбувається зі зменшенням активності фермента, але не заважає утворенню фермент-субстратного комплексу, тобто зв'язується зворотно і утворює неактивні комплекси.

Інгібітор приєднується до ферменту в іншому місці молекули, там де зв'язується субстрат, а не в активному центрі. Характерним для отриманого графіка (рис. 4.5) є змінна швидкість приросту  $1/V_{\max}$ , константа Міхаеліса-Ментен  $K_M$  в свою чергу залишається незмінною, а отже, при будь яких концентраціях інгібітора отримані експериментальні криві в координатах Лайнуівера-Берка утворюватимуть прямі, що перетинатимуться в точці  $1/K_M$  і відсікатимуть відрізки  $1/V_{\max}$ , це дозволило визначати значення  $K_M$  та  $1/V_{\max}$  за концентрацій інгібітора - 0,0001 мг/мл,  $K_M = 6,2$  мг/мл, а  $1/V_{\max} = 24,29$  мг/мл·добу, при концентрації інгібітора - 0,0002 мг/мл,  $K_M = 6,2$  мг/мл,  $1/V_{\max} = 16,54$  мг/мл·добу, для контрольного взірця  $K_M = 6,2$  мг/мл, а  $1/V_{\max} = 3,44$  мг/мл·добу.

Аналогічний результат отримували в експерименті за постійної концентрації інгібітора  $\text{HSO}_3^-$  та різних концентраціях субстрату  $\text{HCO}_3^-$ .

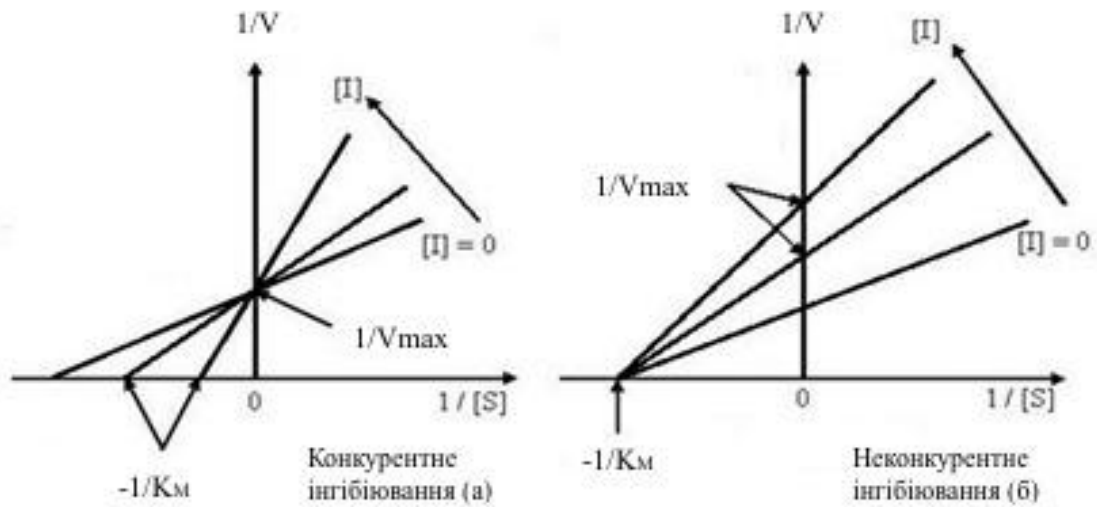


Рис. 4.6. Графік Лайнуівера – Берка для інгібування отриманий з літературних даних, для конкурентного (а) та неконкурентного (б) інгібування [2]

За рівнянням:

$$\frac{1}{V_{max}} = \frac{1}{k_2 E_0} + \frac{1}{k_2 K_1 E_0} C[I] \quad (4.19)$$

є можливим визначити константу нестійкості  $K_I$ .

Тут  $C[I]$  – концентрація інгібітора

У експериментах, де визначали швидкість приросту  $1/V_{max}$  при різних концентраціях інгібітора  $\text{HSO}_3^-$  і постійних концентрації  $\text{HCO}_3^-$  і концентрації фермента, виходить пряма в координатах  $1/V_{max} = f(I)$ . За концентрації діоксиду сульфуру ( $\text{SO}_2$ )  $[I] = 0,0001$  мг/мл;  $[I] = 0,0002$  мг/мл, знаходили константу нестійкості фермент-субстратного комплексу за неконкурентного інгібування  $K_I$ .

За допомогою ординат точок, що відсікають відрізки рівні  $1/V_{max}$ , на рис. 4.6 та за відповідних концентрацій інгібітора, було побудовано графік (рис. 4.7). Тангенс кута нахилу отриманої прямої, дозволив визначити константу нестійкості  $K_I = 10,425$  мг/мл.

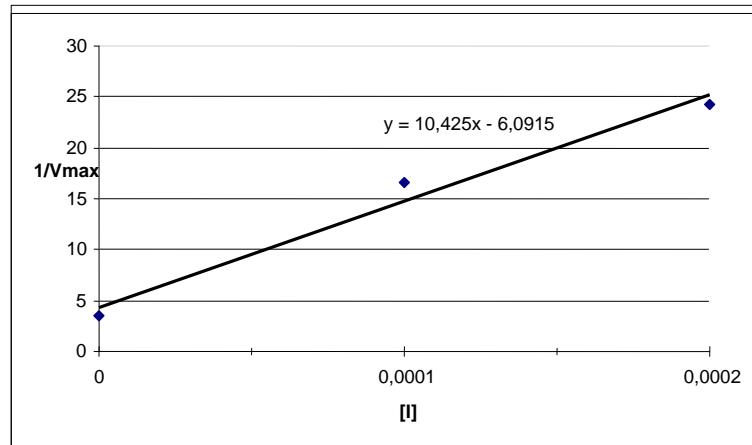


Рис. 4.7. Графік знаходження константи нестійкості при зворотньому неконкурентному інгібуванні

#### 4.4 Активатори процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями

В реальних природних умовах інгібування і активація ферментних систем є найважливішими засобами регулювання метаболізму і пристосування до умов навколишнього середовища

Активація ферментативної активності найчастіше може відбуватися під дією субстратів або кофакторів чи зовсім інших метаболітів. Кофактори можуть впливати позитивно на зв'язування активного центру фермента і субстрату, а також на каталітичне перетворення субстрату, можуть утворювати метал-субстратні комплекси, що більш ефективно підлягають дії ферменту. Молекули субстрату також активують фермент за рахунок інших механізмів. Відомим є стабілізація структури ферменту та наведення необхідних структурних змін в активному центрі молекулами субстрату [7].

Активуєчий вплив на швидкість ферментативної реакції надають речовини органічної і неорганічної природи. Активатори в свою чергу не можуть діяти за конкурентним механізмом, приєднуючись до активного центру ферменту і перешкоджаючи тим самим перетворенню субстрату. Випадки неконкурентної активації зустрічаються частіше, дані активатори не впливатимуть на утворення фермент-субстратного комплексу і прискорюють перетворенню субстрату в

продукт. Для встановлення каталітичних характеристик активаторів вивчали експериментально кінетику приросту хлорофілвмісних мікроводоростей за різних значень концентрацій активаторів.

Під час процесу фотосинтезу мікроводоростей за участі промислових газових викидів важливу роль відіграють активатори процесу протікання біохімічної реакції. Роль активаторів полягає у підвищенні активності ферментів. Окрім вуглекислого газу та діоксиду сірки, у газах також можуть міститися оксиди азоту та фосфору. Швидкість поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями залежить від концентрації активаторів у газовій суміші, що поглинається. Таким чином, важливим є дослідити вплив оксидів азоту,  $\text{NO}_x$ , на фотосинтез мікроводоростями *Chlorella*.

Присутність активатора вкрай важлива для ферменту. Субстрат, а в нашому випадку вуглекислий газ, у межах певних концентрацій є активатором процесу фотосинтезу. Після насичення субстратом, активність ферменту не зростає. Субстрат підвищує стабільність активного центру ферменту, полегшує формування потрібної його конформації. Активатори, входячи до складу активного центру ферменту, можуть сприяти зв'язуванню субстрату, а іноді можуть сполучатися не з ферментом, а із субстратом, утворюючи комплекс, на який краще діє фермент. Активатори можуть діяти непрямим шляхом, зв'язуючи присутній інгібітор.

Згідно літературних даних концентрація  $\text{NO}_3^-$ , яка має згубний вплив на рослини становить  $0,17 - 0,18 \text{ мг/м}^3$ , тому дослідження проводили в межах відомих концентрацій.

В процесі виконання експериментальних досліджень об'єктом спостереження була культура зелених мікроводоростей типу *Chlorella*. Культивування проводили у фотобіореакторах об'ємом  $1 \text{ дм}^3$  протягом 11 діб. Так, як оксид  $\text{N}_x\text{O}_y$ , засвоюється мікроводоростями у вигляді аніону  $\text{NO}_3^-$ , тому вплив його на приріст хлорофілвмісних мікроводоростей вивчали за різних значень їх концентрацій. Для дослідження впливу оксидів нітроген на приріст хлорофілвмісних мікроводоростей у першому фотобіореактор концентрація

аніону  $\text{NO}_3^-$  становила  $8,5 \text{ мг/м}^3$ , у другому  $-15,6 \text{ мг/м}^3$ , у третьому  $-34 \text{ мг/м}^3$ , а у четвертому-  $68 \text{ мг/м}^3$ . Та відповідно контрольний розчин, який не містив відповідних аніонів у трьох варіантах досліджень.

Отримані експериментальні дані та розрахункові величини дозволили побудувати графіки залежності зміни концентрації клітин мікроводоростей в часі за відповідних концентрацій оксиду азоту ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) в розчині за умов його одноразового введення (рис.4.8). Аналізуючи отримані графіки, бачимо, що приріст біомаси клітин мікроводоростей з бігом часу суттєво залежить від концентрації аніону  $\text{NO}_3^-$  в порівнянні з контролем, де він відсутній, із зростанням концентрації аніону збільшується приріст клітин мікроводоростей. Тому його можна віднести до активатору процесу фотосинтезу. Приріст значень концентрацій мікроводоростей відбувається лише до певного значення концентрації аніону  $\text{NO}_3^-$ . У четвертій пробі за концентрації аніону  $\text{NO}_3^-$   $68 \text{ мг/мл}$  на другий день відбувається аналогічна поведінка як і в інших, тобто протягом двох днів відбувається пристосування мікроводоростей до вмісту аніону. На третю добу спостерігається незначний ріст, який на 5-ту добу є вищий у порівнянні з контролем. На шосту добу відбувається спад і протягом наступних п'яти днів спостерігається зменшення приросту. За вищих значень концентрацій аніону  $\text{NO}_3^-$  мікроводорості відмирають на відміну від контролю.

Із зростанням концентрації оксидів азоту ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) збільшується приріст клітин мікроводоростей в порівнянні з контролем. Таке перевершення значень концентрацій мікроводоростей, лише до певного значення концентрації оксидів. Як видно з (рис. 4.8) 4 зразок на другий день експерименту поводить себе ідентично до інших, тобто має місце фаза адаптації або пристосування до двох днів, з третьої доби починається незначний ріст, який на 5-ту добу є вищий ніж у контрольній пробі, проте з шостої доби спостерігається спад і наступні п'ять днів спостерігається зменшення приросту. При вищих значення концентрацій ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) має місце відмирання мікроводоростей в порівнянні з контролем.

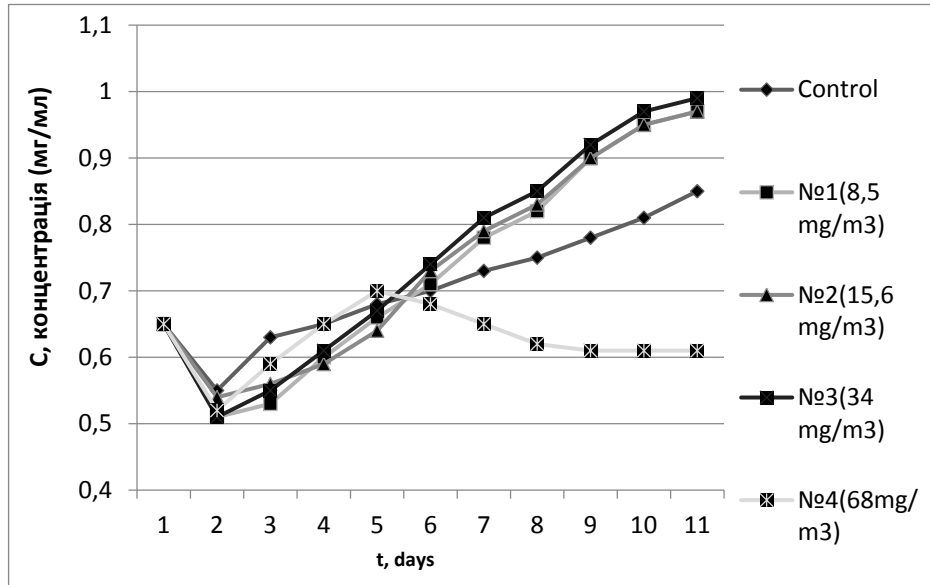


Рис . 4.8. Графік залежності зміни концентрації клітин біомаси мікрободоростей в часі за відповідного вмісту  $\text{NO}_3^-$

Значення коефіцієнтів приросту –  $k$  знаходили аналогічно, як у розділі 3 і вони відповідно становили:  $0,075 \text{ c}^{-1}$ ;  $0,076 \text{ c}^{-1}$ ;  $0,078 \text{ c}^{-1}$  (рис.4.9).

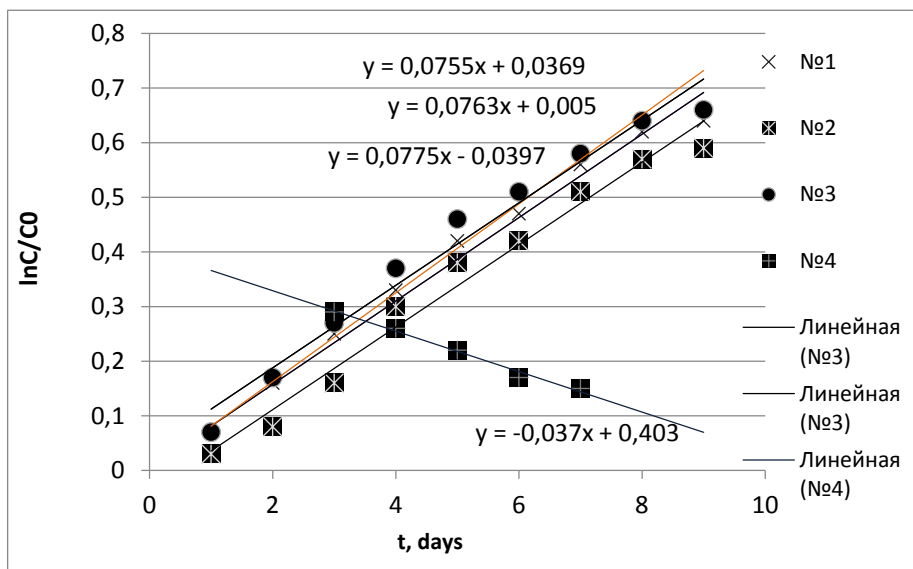


Рис.4.9. Залежність зміни логарифму вмісту клітин біомаси мікрободоростей від часу за відповідних концентрацій  $\text{NO}_3^-$



#### 4.4.1 Математичний опис приросту біомаси мікрободоростей за участі окислів азоту

Швидкість приросту біомаси в залежності від концентрації окислів азоту визначатиметься швидкістю надходження цих ж оксидів через клітинну оболонку до певного сприятливого значення, та швидкістю відмирання після певного критичного значення концентрації окислів нітрогену в середовищі культивування і запишеться таким кінетичним рівнянням:

$$\frac{dC}{dx} = k_1 C - k_2 C; \quad (4.20)$$

де:  $k_1, k_2$  - коефіцієнт приросту за певних значень концентрацій оксидів нітрогену.  $x$  – концентрація оксидів нітрогену.

швидкість приросту за сприятливих концентрацій оксидів нітрогену описується відомим рівнянням;

$$\frac{dC}{dx} = k_1 C; \quad (4.21)$$

Таким чином, вирази (4.20) та (4.21) із заданням початкових умов, при  $x=0, C=C_0$  є математичним формулюванням моделі приросту біомаси мікрободоростей за умови наростання концентрації окислів нітрогену:

$$\begin{cases} \frac{dC}{dx} = k_1 C - k_2 C \\ \frac{dC}{dx} = k_1 C; \\ x = 0, C = C_0; \end{cases} \quad (4.22)$$

Для вирішення лінійної системи (4.22) застосуємо операційний метод Ейлера. Для цього розділемо змінні величин у першому рівнянні системи (4.22) одержимо:

$$\frac{dC}{C} = k_1 dx; \quad (4.23)$$

Рівняння (4.23) інтегруємо:

$$\ln C = k_1 x + A; \quad (4.24)$$

Постійну інтегрування –  $A$  знаходимо із початкових умов:  $x=0, C=C_o$ ;

У початковий момент  $X=0$  концентрація окислів нітрогену в середовищі культивування рівна нулю. Тоді:

$$\ln C_o = A; \quad (4.25)$$

Підставивши величину –  $A$  у рівняння (4.24) одержуємо:

$$\ln \frac{C}{C_o} = k_1 x; \quad (4.26)$$

або: 
$$\frac{C}{C_o} = e^{-k_1 x}; \quad (4.27)$$

$$C = C_o e^{k_1 x}; \quad (4.28)$$

Отриманий вираз (4.28) підставляємо у друге рівняння системи (4.20):

$$\frac{dC}{dx} = k_1 C_o e^{k_1 x} - k_2 C; \quad (4.29)$$

Після незначних математичних перетворень одержуємо:

$$\frac{dC}{dx} + k_2 C = k_1 C_o e^{k_1 x}; \quad (4.30)$$

вираз (4.30) це лінійне диференціальне рівняння першого порядку, яке містить шукану величину –  $C$ , і її похідну –  $C'$ , в першій степені.

Помножимо ліву та праву частини рівняння (4.30)  $\alpha(t) = e^{k_2 x}$ ;

$$\frac{dC}{dx} e^{k_2 x} + k_2 e^{k_2 x} C = k_1 C_o e^{(k_2+k_1)x}; \quad (4.31)$$

Як видно, ліва частина цього виразу є повною похідною від функції –  $Ce^{k_2 x}$ , а тому рівняння (4.31) можна переписати і в такому вигляді:

$$(Ce^{k_2 x})' = k_1 C_o e^{(k_2+k_1)x}; \quad (4.32)$$

Інтегруємо рівняння (4.31) в межах від  $0$  до  $x$  при початкових умовах:

$$Ce^{k_2 x} \Big|_0^x = C_o \frac{k_1}{(k_2+k_1)} e^{(k_2+k_1)x} \Big|_0^x;$$

або: 
$$Ce^{k_2 x} = C_o \frac{k_1}{(k_2+k_1)} [e^{(k_2+k_1)x} - 1]; \quad (4.33)$$

рішення її дозволяє визначити концентрацію мікробдоростей –  $C$ :

$$C = C_o \frac{k_1}{(k_2 + k_1)} [e^{k_1 x} - e^{-k_2 x}]; \quad (4.34)$$

Рівняння (4.34) описує зміну концентрації біомаси мікрободоростей в межах концентрацій окислів нітрогену від 0 до безмежності. Дане рівняння дозволяє знайти концентрацію окислів нітрогену, за якої досягається максимальне значення концентрації біомаси мікрободоростей. Для цього необхідно знайти екстремум, а саме продиференціювати дане рівняння та прирівняти похідну до нуля отримуємо:

$$\begin{aligned} C_o \frac{k_1}{(k_2 + k_1)} k_2 e^{-k_2 x} &= C_o \frac{k_1}{(k_2 + k_1)} k_1 e^{k_1 x}; \\ k_2 e^{-k_2 x} &= k_1 e^{k_1 x}; \end{aligned} \quad (4.35)$$

Звідки після логарифмування отримуємо:

$$\ln k_2 - k_2 x = \ln k_1 + k_1 x;$$

або :

$$x_{\max} = \frac{\ln k_2 - \ln k_1}{(k_1 + k_2)}; \quad (4.36)$$

Використовуючи дані математичної обробки результатів експериментальних досліджень приросту популяції знаходимо коефіцієнти приросту  $k_1, k_2, k_3, \dots$ , рис. 4.9 Після підстановки отриманих значень у рівняння математичної моделі рівня (4.36) розраховуємо оптимальне значення оксидів азоту приросту мікрободоростей типу *Chlorella*.

$$x_{\max} = \frac{\ln k_2 - \ln k_1}{(k_1 + k_2)} = \frac{\ln(-0,037 - \ln 0,076)}{(0,076 - 0,037)} = 18,46; \quad (4.37)$$

Це є ця концентрація аніонів нітрогену за якої досягається максимальне значення концентрації біомаси мікрободоростей мікрободоростей у фотобіореакторах [147].

## ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

1. Досліджено вплив диоксиду сульфуру на динаміку поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікрободоростями *Chlorella*.

2. Доведено відповідність експериментальних даних теорії Лайнуївера-Берка для випадку зворотнього неконкурентного інгібування. Таким чином доведено зворотнє, неконкурентне інгібування диоксиду сульфуру процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями у водному середовищі.
3. Визначена константа нестійкості комплексу диоксиду сульфуру з ферментом у ферментсубстратному комплексі.
4. Знайдено співвідношення  $\text{CO}_2:\text{SO}_2$  за якого може відбуватись процес фотосинтезу та приріст біомаси мікроводоростей.
5. Розраховано допустимі значення концентрацій диоксиду сульфуру для процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями у водному середовищі.
6. Вивчено вплив оксидів нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) на швидкість поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями у водному середовищі.
7. Отримано математичну модель приросту біомаси мікроводоростей за різних концентрацій оксидів нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ). Її розв'язок дозволяє розраховувати критичні значення концентрацій оксидів нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) у водному розчині за відомими значеннями коефіцієнтів приросту –  $k$ .
8. Отримано аналітичну залежність розрахунку значень концентрації аніону  $\text{HSO}_3^-$  за якої коефіцієнт приросту може набувати додатнього, від'ємного значення, або бути рівним нулю. Це дозволяє керувати процесом поглинання вуглекислого газу із залученням хлорофілвмісних мікроводоростей.

## РОЗДІЛ 5

### ПРОМИСЛОВИЙ СПОСІБ ПОГЛИНАННЯ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ ХЛОРОФІЛВМІСНИМИ МІКРОВОДОРОСТЯМИ

Розділ присвячений розробленню технологічної схеми поглинання парникових газів, зокрема вуглекислого газу (CO<sub>2</sub>), хлорофілвмісними мікроводоростями типу *Clorella*.

Згадувані раніше переваги хлорофілсинтезуючих мікроводоростей над наземними рослинами для використання їх у процесі поглинання вуглекислого газу, а саме: високі темпи приросту, здатність зростати в закритих системах, зберігаючи всі необхідні властивості, в першу чергу абсорбцію CO<sub>2</sub>. Використання таких властивостей мікроводоростей забезпечує зв'язування вуглекислого газу та доцільність впровадження системи очищення промислових газових викидів за участі мікроводоростей типу *Chlorella*.

#### **5.1 Технологія знешкодження парникових газів у промислових умовах із застосуванням хлорофілвмісних мікроводоростей *Chlorella***

Для боротьби зі шкідливими викидами вуглекислого газу на виробництві нами запропонована наступна схема біологічного очищення із застосуванням хлорофілвмісних мікроводоростей *Chlorella* (рис.5.1).

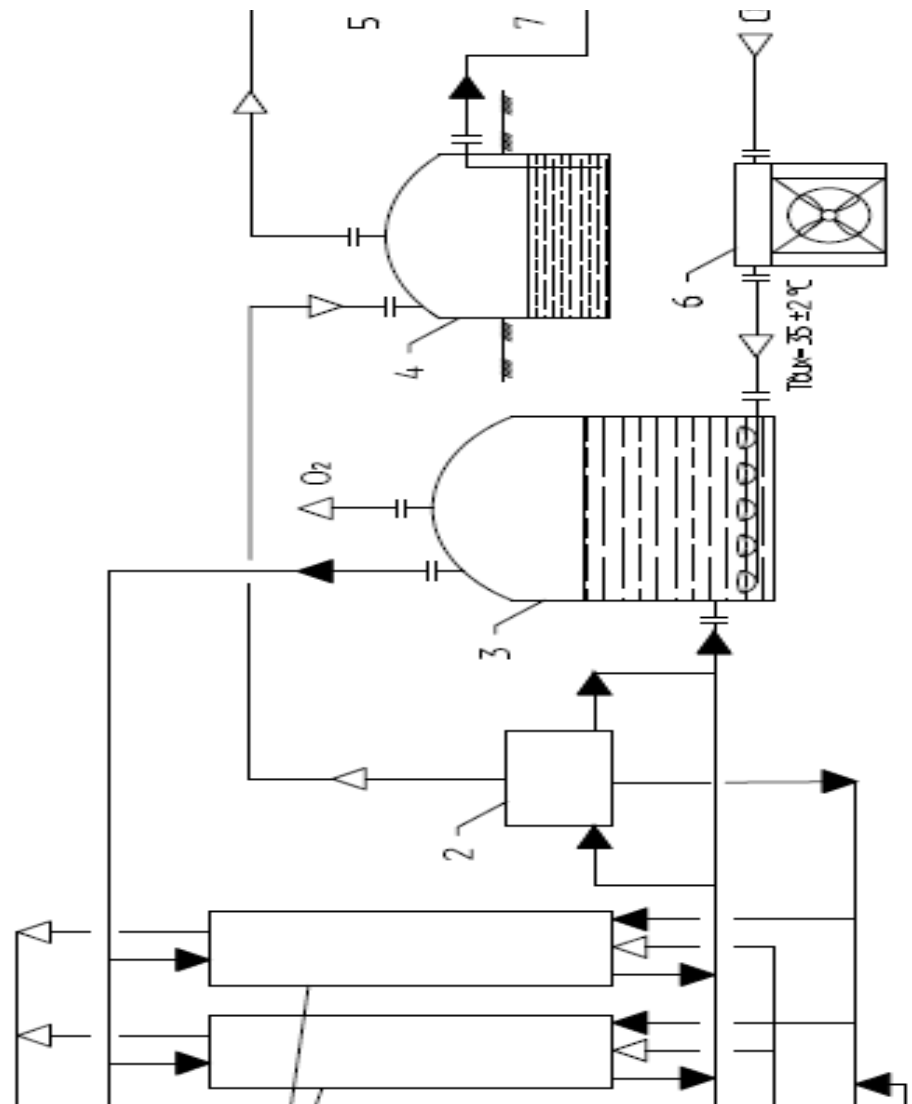


Рис. 5.1. Технологічна схема поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікродоростями типу *Chlorella*

Позначення до схеми на рисунку 5.1.

- 1- фотобіореактори, 2- накопичувач суспензії мікродоростей,  
 3- барботажний біореактор, 4- метантенк, 6- апарат повітряного охолодження, 5- газгольдер, 7- шламозбірник.

Промислові газові викиди, охолоджені у апараті повітряного охолодження (АПО) – 6, до температури не вище  $35\pm 2^\circ\text{C}$  надходять у барботажний біореактор - 3 де відбувається поглинання вуглекислого газу і супутніх оксидів продуктів спалювання палива суспензією хлорофілвмісних мікроводоростей. Після барботажного біореактора - 3 газова суспензія надходить в верхню частину фотобіореакторів - 1, де надлишковий вуглекислий газ знаходиться в замкненому циклі та використовується для барботування фотобіореакторів. Таким чином створюється замкнений процес, де вуглекислий газ із супутніми оксидами циркулює до повного їх поглинання. Завдяки барботажному реактору - 3 не тільки вуглекислий газ розчиняється у суспензії мікроводоростей, а й діоксид сульфуру та оксиди азоту ( $\text{SO}_2$  ;  $\text{N}_x\text{O}_y$ ). Щоб оптимізувати умови поглинання вуглекислого газу водоростями, у барботажному реакторі - 3 створюється постійна температура. Необхідний температурний режим досягається завдяки теплообмінникам, які розташовані всередині барботажного біореактора - 3. Вуглекислий газ, необхідний для фотосинтезу, розчиняється в водній суспензії мікроводоростей барботажного біореактора - 3, абсорбується, а далі за механізмом описаним у третьому розділі засвоюється мікроводоростями з подальшим метаболізмом.

Суспензія, збагачена вуглекислим газом, із біореактора - 3, надходить у фотобіореактори - 1. Фотобіореактори, мають вигляд колон, виготовлених із прозорого пластику, де створюються необхідні умови освітлення у встановленому діапазоні довжин хвиль. Як було доведено раніше, найбільшу область поглинання має спектр з довжиною хвиль від 340-400 нм. Цьому спектру відповідає синій (фіолетово-синій) колір світла. У такий спосіб всі мікроводорості одержують необхідну кількість світла. А також створюються оптимальні умови живлення, які необхідні для поглинання вуглекислого газу із промислових газових викидів мікроводоростями.

У прозорих колонних фотобіореакторах - 1 проходить поглинання вуглекислого газу мікроводоростями за умов опромінення світлом оптимального діапазону, а також надходження живильних речовин зі збірника надлишкової

кількості мікроводоростей, накопичувача - 2. Для регулювання процесу поглинання вуглекислого газу використовується водневий показник (рН) суспензії. Він вказує на кислотність середовища, що створюють супутні оксиди та вуглекислий газ і таким чином, забезпечується регулювання лужно-кислотного балансу суспензії в фотобіореакторах - 1. рН середовища підтримують в межах 5,5-8,5. Після поглинання необхідної кількості світлового потоку (світлової енергії) хлорофілвмісні мікроводорості знову надходять у барботажний реактор - 3 і повторно повертаються у колонні циркуляційні біореактори - 1. Необхідний вміст мікроводоростей для ефективного процесу поглинання промислових газових викидів у фотобіореакторі, регулюється значенням величини оптичної густини суспензії. У випадку надлишку мікроводоростей, вони направляються у накопичувач біомаси мікроводоростей - 2, а коли в нормі то в барботажний біореактор - 3. Вилучена біомаса мікроводоростей із накопичувача -2, у вигляді пастоподібної консистенції, поступає у метантенк – 4, де проходить її збродження. У верхньому об'ємі метантенка накопичується біогаз, який поступає у газгольдері - 5. Шлам, що утворюється у метантенку – 4 надходить у шламозбірник -7.

Поглинання промислових газових викидів хлорофілвмісними мікроводоростями повинно відбуватись за температури не нижче 15° С в холодний період, наявність опромінення в необхідному діапазоні довжин хвиль та рН близьким до нейтрального..

Поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями типу *Chlorella* можливе із середовища з діоксиду сульфуру з при співвідношенні оксидів CO<sub>2</sub>:SO<sub>2</sub> не менше як 10:1 [148].

Дана технологія захищена патентом на корисну модель.



## ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5

1. Розроблено технологічну схему поглинання парникових газів, зокрема вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ), хлорофілвмісними мікроводоростями *Chlorella*.
2. Представлені сучасні способи переробки біомаси мікроводоростей, що застосовуються та які знаходяться на стадії розробки.
3. Запропоновані можливі шляхи вирішення питання поводження з отриманою біомасою мікроводоростей в результаті очищення промислових газових викидів з урахуванням світового досвіду.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Побудовано математичні моделі поглинання вуглекислого газу хлорофілвмісними мікроводоростями за умови присутності інших супутніх газів продуктів спалювання палива. Рішення математичних моделей дозволяють розраховувати основні параметри технології очищення газових викидів.
2. Запропоновано поетапний транспорт парникових газів із газової фази у внутрішньоклітинне середовище мікроводоростей із подоланням всіх опорів. Виведено рівняння для визначення сумарного опору.
3. Вивчено вплив концентрації вуглекислого газу на приріст біомаси мікроводоростей. Встановлено ферментативний механізм поглинання вуглекислого газу мікроводоростями;
4. Вивчено вплив температури на динаміку поглинання вуглекислого газу мікроводоростями. Визначено значення температурного коефіцієнту біореакції фотосинтезу в реальних умовах поглинання  $\text{CO}_2$ ;
5. Встановлені довжини світлових хвиль для оптимального перебігу процесу поглинання парникових газів.
6. Встановленні інгібітори та активатори процесу поглинання парникових газів (складування вуглекислого газу).
7. Визначений вид інгібування процесу поглинання парникових газів діоксидом сульфуру та визначено значення константи нестійкості фермент субстратного комплексу з  $\text{SO}_2$ .
8. Знайдено співвідношення  $\text{CO}_2:\text{SO}_2$  за якого може відбуватись процес поглинання парникових газів та приріст біомаси мікроводоростей.
9. Вивчено вплив оксидів нітрогену ( $\text{N}_x\text{O}_y$ ) на динаміку поглинання вуглекислого газу ( $\text{CO}_2$ ) хлорофілвмісними мікроводоростями у водному середовищі та встановлено концентрації згубного впливу на діоксиду

сульфуру ( $\text{SO}_2$ ), оксидів нітрогену ( $\text{NO}_x$ ) на приріст біомаси мікроводоростей.

10. Розроблено та запропоновано технологічну схему очищення промислових газових викидів від парникових газів хлорофілвмісними мікроводоростями *Chlorella* із подальшою біометанізацією отриманої біомаси, на яку отримано патент України.
11. Розроблено і впроваджено в науковий процес методичні вказівки “Очищення газових викидів від вуглекислого газу біологічним методом за допомогою хлорофілвмісних мікроводоростей *Chlorella*”.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Висоцький С.П. Використання біореакторів для видалення карбонатної кислоти із димових газів / С.П. Висоцький, А.О. Чернюк // Вісті Автомобільно-дорожнього інституту: науково-виробничий збірник / АДІ «ДонНТУ». – Горлівка, 2009. - № 2.(9) – С.231-234.
2. Цоглин Л. Н. Биотехнология микроводорослей / Л. Н. Цоглин, Н. А. Пронина.. – Москва: Научный мир, 2012. – 184 с. – (Научный мир).
3. Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / О. К. Золотарьова, Є. І. Шнюкова, О. О. Сиваш, Н. Ф. Михайленко. – Київ: Альтерпрес, 2008. – 234 с.
4. Commercial applications of microalgae / [P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran та ін.]. // Bioengineering. – 2006. – №101. – С. 87–96.
5. Синьозелені водорості [Електронний ресурс] // МГЕО "Наш дім - Манява". – 2019. – Режим доступу до ресурсу: [http://manyava.org/publ/vikoristannja\\_vodnikh\\_resursiv/gidrologija/sinozeleni\\_vodorosti/24-1-0-305#](http://manyava.org/publ/vikoristannja_vodnikh_resursiv/gidrologija/sinozeleni_vodorosti/24-1-0-305#).
6. Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. / [C. Yoo, S. Jun, J. Lee and oth.]. // Bioresour. Technol. – 2010. – №101. – P. 71–74.
7. High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. / [W. Xiong, X. Li, J. Xiang, Q. Wu. and oth.] // Appl. Microbiol. Biotechnol.. – 2008. – №78. – P. 29–36.
8. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? / [X. Zhu, S. Long, D. Ort. and oth.] // Curr. Opin. Biotechnol. – 2008. – №19. – P. 153–159.
9. Packer M. Algal Capture of Carbon Dioxide; Biomass Generation as a Tool for Greenhouse Gas Mitigation with Reference to New Zealand Energy Strategy and Policy / Michael Packer. // Energy Policy. – 2009. – №37. – P. 3428–3437.

10. Development of suitable photobioreactors for CO<sub>2</sub> sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. / [K. Kumar, C. Dasgupta, B. Nayak and oth.]. // *Bioresour. Technol.* – 2011. – №102. – P. 4945–4953.
11. Lee J. Review of advances in biological CO<sub>2</sub> mitigation technology. / J. Lee, J. Lee. // *Biotechnol. Bioprocess Eng.* – 2003. – №8. – P. 354–359.
12. Microalgal biomass production and on-site bioremediation of carbon dioxide, nitrogen oxide and sulfur dioxide from flue gas using *Chlorella* sp. culture. / [S. Chiu, C. Kao, T. Huang and oth.]. // *Bioresour. Technol.* – 2011. – №102. – P. 9135–9142.
13. Parametric studies of the effectiveness of oxidation of NO by ozone. / [J. Dora, M. Gostomczyk, M. Jakubiak and oth.]. // *Chem. Process Eng.* – 2009. – №30. – P. 621–34.
14. The characterization of ZnO-anatase-rutile three component semiconductor and enhanced photocatalytic activity of nitrogen oxides. / [H. Wang, Z. Wu, Y. Liu, Z. Sheng.] // *J. Mol. Catal. A-Chem.* – 2008. – №287. – P. 176–181.
15. Fadhil M. Salih. Microalgae Tolerance to High Concentrations of Carbon Dioxide: A Review / Fadhil M. Salih. // *Journal of Environmental Protection.* – 2011. – P. 648–654.
16. Markou G. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. / G. Markou, D. Vandamme, K. Muylaert. // *Water Res.* – 2014. – №65. – P. 186–202.
17. Troschl C. Cyanobacterial PHA Production - Review of Recent Advances and a Summary of Three Years' Working Experience Running a Pilot Plant / C. Troschl, K. Meixner, B. Drogg. // *Bioengineering.* – 2017. – №4. – P. 26.
18. Valdés F. Estimation of CO<sub>2</sub> stripping, CO<sub>2</sub> microalgae consumption ratios in a bubble column photobioreactor using the analysis of the pH profiles. Application to *Nannochloropsis oculata* microalgae culture / F. Valdés, M. Hernández, L. Catalá. // *Bioresour. Technol.* – 2012. – №119. – P. 1–6.

19. Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus* / [Y. Jiang, W. Zhang, J. Wang and oth.]. // *Bioresour. Technol.* – 2013. – №128. – P. 359–364.
20. Azov Y. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures / Y. Azov, J. Goldman. // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1982. – №43. – P. 735–739.
21. Циганков А.А. Лабораторні фотобіореактори / А.А. Циганков. // *Приклад. біохім. і мікробіол.* – 2001. – №4. – С. 397.
22. Богданов Н.И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных: монография / Богданов Н.И. – Пенза, 2-е изд. перераб. и доп., 2007. – С. 48.
23. Цоглін Л.Н. Фотобіореактори закритого типу для культивування мікроводоростей. / Л.Н. Цоглін // *Фізіол. росл.* – 2001. – № 1. – С.155.
24. Les micro-algues pour purifier l'air urbain et valoriser le CO2 en énergie verte [Електронний ресурс] // *Pollutec-2018.* – 2018. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.pollutec.com/fr/Exposants/4697291/SUEZ/Produits/1417613/Les-micro-algues-pour-purifier-lair-urbain-et-valoriser-le-CO2-en-energie-verte>.
25. Les micro-algues : la ressource énergétique du futur [Електронний ресурс] // *L'energeek.* – 2017. – Режим доступу до ресурсу: <https://lenergeek.com/2017/06/07/micro-algues-depollution-air-production-energie/>.
26. Биохимия синезеленых водорослей / [Е. Судьина, Е. Шнюкова, Н. Костлан та ін.]. – Київ: Наук. думка, 1978. – 264 с.
27. Шаларь В.В. Применение синезеленых водорослей в качестве стимулятора роста культурных растений / Шаларь В.В., Шаларь В.М., Маня Ш.. // *Мат. III Междунар. конф. «Актуальные проблемы современной альгологии».* – Харьков: ХНУ. – 2005. – С. 179–180.
28. Borowitzka M. *Micro-algal biotechnology* / M. Borowitzka, L. Borowitzka. – Cambridge, 1988. – 477 p.

29. Варфоломеев С.Д. Биотехнология. Кинетические основы микробиологических процессов / Варфоломеев С.Д., Калюжный С.В. – Москва: Высшая школа, 1990. – 296 с.
30. Андреюк Е.И. Цианобактерии / Андреюк Е.И., Коптева Ж.П., Занина В.В. – Киев: Наукова думка, 1990. – 200с.
31. Utilization of carbon dioxide in industrial flue gases for the cultivation of microalga *Chlorella*. / [Kao, C. Y., Chen, T. Y., Chang and oth.]// *Bioresource Technology*. – 2014. - №166. - P. 485-493.
32. Viktoriia Katysheva. About the problem of biological processes complicated by mass transfer / Vasyl Dyachok, Serhiy Huhlych, Yuri Yatchyshyn, Yulia Zaporochets, Viktoriia Katysheva // *Chemistry & Chemical Technology*. — Lviv: Lviv Politechnic Publishing House, 2017. — Vol 11. — No 1. — P. 111–116.
33. Development of suitable photobioreactors for CO<sub>2</sub> sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. / [Kumar, K., Dasgupta, C.N., Nayak B. And oth.]// *Bioresour. Technol.* – 2011/- №102.- P. 4945-4953.
34. Lee J.S. Review of advances in biological CO<sub>2</sub> mitigation technology. *Biotechnol.* /Lee, J.S., Lee, J.P.//*Bioprocess Eng.* – 200.- №8 - P. 354-359.
35. Viktoriia Katysheva. Effect of Fuel Combustion Products on Carbon Dioxide Uptake Dynamics of Chlorophyll Synthesizing Microalgae. /Vasil Dyachok, Solomiya Mandryk, Victoria Katysheva, Serhiy Huhlych . // - Poland: *Journal of Ecological Engineering*, 2019. - Vol 20(6) - P. 18-24.
36. A mutant strain of microalga *Chlorella* sp. for the carbon dioxide capture from biogas. [Kao, C.Y., Chiu, S.Y., Huang and oth.]// *Biomass Bioenerg.* - 2012.- №36. –P. 132-140.
37. Parametric studies of the effectiveness of oxidation of NO by ozone. // [Dora, J., Gostomczyk, M.A., Jakubiak and oth.]// *Chem. Process Eng.* - 2009.- №30.- P.621-34.
38. Graham L.E. *Algae* / Graham L.E., Graham J.M., Wilcox L.W. - Upper Saddle River, New Jersey. - 2009.- 23 p.

39. Production of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate by thermophilic cyanobacterium, *Synechococcus* sp. MA19, under phosphate-limited conditions.// [Nishioka M., Nakai K., Miyake M.]/ *Biotechnology Letters*. – 2001.- V. 23 No. 14. - P. 1095-1099.
40. Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. [Kumar K, Mishra S.K., Shrivastav A.]. *Renew. Sustain. Energy Rev.* – 2015. - № 51. – P. 875–885.
41. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients.// [Markou G. Vandamme D. Muylaert K. and oth.]/ *Water Res.* - 2014.- 65.- P.186–202.
42. Markou G. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review./ Markou G., Georgakakis D. // *Appl. Energy*.- 2011.- №88. – P. 3389–3401.
43. Cultivation of *Spirulina platensis* using pig wastewater in a semi-continuous process. / [Chaiklahan R., Chirasuwan N., Siangdung W. and oth.]/ *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2010.- №20. – P. 609–614.
44. Cicci A. Production of the Freshwater Microalgae *Scenedesmus Dimorphus* and *Arthrospira Platensis* by Using Cattle Digestate./ Cicci A., Bravi M.// *Chem. Eng. Trans.* – 2014.- №38.- P. 85–90.
45. Coupling algal biomass production and anaerobic digestion: Production assessment of some native temperate and tropical microalgae./ [ Fouilland E., Vasseur C., Leboulanger C. and oth.]/ *Biomass Bioenergy*.- 2014.- №70, P.564–569.
46. Андреюк Е.И. Основы экологии почвенных микроорганизмов./ Андреюк Е.И., Валагурова Е.В. // Киев: Наукова думка.- 1992. –223с.
47. Функціонування мікробних угруповань ґрунту в умовах антропогенного навантаження./ [Андреюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф. та ін]// - Київ.- Обереги. – 2001. –240 с.
48. Рубенчик Л. И. Мікроорганізми і космос. / Л.И. Рубенчик. – Київ: Наукова думка, 1968. – 112 с.



49. Рубенчик Л. И. Поиск микроорганизмов в космосе. 2-е изд./ Л.И. Рубенчик. – Київ: Наукова думка, 1983 . – 112 с.
50. New Plant Growth Regulators: basic research and technologies of application./ Ed.Ponomarenko S.P.,Iutynska H.O., Kyiv: Nichlava. – 2011. – 210p.
51. Growth of three microalgae strains and nutrient removal from an agro-zootechnical digestate./ [Franchino M., Comino E., Bona F. and oth.]// Chemospher.- 2013.- №92(6).- P.738–744.
52. Cultured phototrophic biofilms for phosphorus removal in wastewater treatment. [Guzzon A., Bohn A., Diociaiuti M.]//.-Water Res.- 2008.- №42(16). – P. 4357–4367.
53. Tolerance of microalgae to high CO<sub>2</sub> and high temperature. [Hanagata N., Takeuchi T., Fukuju Y.]//.- Phytochem.- 1992.- №31(10). – P. 3345–3348..
54. High concentration CO<sub>2</sub> sequestration by using microalgae in staged cultivation. /[Huang, G.H., Li, T., Chen, F.,]//.- Environ. Prog. Sustain.- 2016.- №. 35(6), – P. 1862–1867.
55. Kasiri S. Kinetic modeling and optimization of carbon dioxide fixation using microalgae cultivated in oil-sands process water./ Kasiri S., Ulrich A., Prasad V.// Chem. Eng. Sci. - 2015.- №137, P.697– 711.
56. Mehrabadi A. Effect of CO<sub>2</sub> addition on biomass energy yield in wastewater treatment high rate algal mesocosms. / Mehrabadi A., Farid M.M., Craggs R. //Algal Res. - 2017.- №22, P. 93–103.
57. Performance evaluation of microalge for concomitant wastewater bioremediation, CO<sub>2</sub> biofixation and lipid biosynthesis for biodiesel application. / Nayak, M., Karemore, A., Sen, R., //Algal Res.- 2016.- № 16, - P. 216–223.
58. Papazi A. Bioenergetic changes in the microalgal photosynthetic apparatus by extremely high CO<sub>2</sub> concentrations induce an intense biomass production. / Papazi A., Makridis P., Divanach P., Kotzabasis K.// Physiol.Plant. - 2008.- №132(3).- P. 338–349.

59. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. / [Chen C.-Y., Yeh K.-L., Aisyah R. and oth.]. // *Bioresour. Technol.* - 2011.-№102.-P 71-81.
60. Сомова Н.Г. Микробное заселение поверхности каменных строений: синэкологический анализ/ Сомова Н.Г., Добровольская Г.Г., Зенова Г.М., Ивановский Г.Н.// *Микробиология.* -1998.- №5. - С.687-693.
61. Сопрунова О. Цианобактериальные ассоциации перспективные агенты реабилитации техногенных экосистем. : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Сопрунова О.Б. – Москва, 2005. – 44 с.
62. Телитченко М.М. Физиолого-экологические связи и авторофные фотосинтезирующие микроорганизмы./ Телитченко М.М., Гусев М.В. // *Актуальные проблемы экологии синезеленых водорослей.* - М.: Изд-во «Наука», 1964. - С.79-82
63. Тиберкевич Н. Л. Суточная динамика гетеротрофных бактерий в культурах *Cyanophyta*./ Тиберкевич Н. Л. - *Anbrcomra.* -2000. -Т.10. №2. - С. 193-200.
64. Fuller W.H. Utilisation of the phosphorous of the algae cells measures by the Neubauer technigue. / Fuller W.H., Rogers R.S. // *Soil Sci.* – 1952.- V.74, №6, P.417- 430.
65. Gangwane L.V. Tolerance of certain fungicides by nitrogen fixing blue-green and their side effects on rice cultivar. / Gangwane L.V., Kulkran L.J. // *"Pesticides"*.- 1979. - №13.- №5.- P.37-38.
66. Hadzon R. E. Effects of four oils on marine bacterial population: controlled ecosystem pollution experiment/ Hadzon R. E., Azam F., Lee R. F.// *Bull. Mar. Sci.* – 1997.- Vol 27, № 1. - P.119-127.
67. Halperin D.R. Diazotrophic Cyanobacteria from Argentina paddy fields./ Halperin D.R., Cano M.S., Me Mule M.C.Z., Caire G.Z. // *Fyton.* - 1992. 53. - № 2- P.135-142.
68. Kumar J.I.N. Some metabolic observations of *Nostoc muscorum* to a herbicide-fluchloralin./ Kumar J.I.N., Kumar R.N. // *Plant Arch.* - 2002. - № 2. - P. 289-293.

69. Lefevre M. "Algae and man". / Lefevre M. // N. Y.. - 1964. P.347-386.
70. Андреева В. М. Почвенные и аэрофильные зеленые водоросли (Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales). / Андреева В. М. – СПб, 1998.- 351с.
71. Андреюк Е.И. Цианобактерии/ Андреюк Е.И., Коптева Ж.П., Занина В.В.// АН СССР. Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного. - Киев: Наук думка, 1990.-200с.
72. Судьина Е.Г. Основы эволюционной биохимии растений. / Судьина Е.Г., Лозовая Г.И. – Киев: Наук. думка, 1982. – 360 с.
73. Золотарьова О.К. Продукування водню мікрводоростями під дією сонячного світла./ Золотарьова О.К., Подорванов В.В., Поліщук О.В. Шнюкова Є.І. // Розділ у монографії під ред. В.Д. Походенка, В.В. Скорохода, Ю.М. Солоніна. – Київ: 2010. – 496 с.
74. Onoiko O.B. Influence of sulfite on ATPase activity of coupling factor CF1 isolated from spinach chloroplasts./ Khomochkin A.P., Zolotareva O.K. // Ukr. Biochem. J. – 2019. – Vol. 91, N 1. – P. 47-52.
75. Гусев М. В. Биология синезеленых водорослей./ Гусев М. В., Телитченко М. М., Федоров В. Д. // М.: Изд-во МГУ, 1964.- 336 с.
76. Гусев М.В. Цианобактерии (физиология и метаболизм). / Гусев М.В., Никитина К.А. //М.: Наука, 1979.- 228 с.
77. Давыдов Д.А. Азотфиксирующая способность эпифитных цианобактерий в сообществах мохообразных на территории Хибин (Кольский п-ов)// Давыдов Д.А., Егоров В.И. Пущинская школа-конференция молодых ученых, сборник тезисов. Пущино, 2003. - С. 165.
78. Дедусенко-Щеголева Н. Т. Определитель пресноводных водорослей СССР. Выпуск 5 .Желтозеленые водоросли./ Дедусенко-Щеголева Н. Т., Голлербах М. М. // СССР.М.: Ленинград, 1962. - 272 с.
79. Дедусенко-Щеголева Н.Т. Определитель пресноводных водорослей СССР. Выпуск 8. Зеленые водоросли. Класс Вольвоксовые Ghlorophyta:

- Volvocineae. / Дедусенко-Щеголева Н.Т., Матвиенко А.М., Шкорбатов Л.А. // Москва-Ленинград: Наука, 1959. - 230 с.
80. Домрачева Л.И. Особенности жизненной стратегии *Cylindrospermum licheniforme* как эдификатора фототрофных микробных сообществ "цветения" почвы./ Домрачева Л.И. //Материалы международной научной конференции "Автотрофные микроорганизмы", Москва. -2000. -С.56-58.
81. Mata T.M. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. /Mata T.M., Matins A.A., Caetano N.S.// Renew. Sust. Energ. Rev. – 2010.-№14. – P.217-232.
82. Андреева В. М. Почвенные и аерофильные зеленые водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales)/ Андреева В. М. // СПб Наука.-1998 .- 351 с.
- 83.Gors M. The potential of ergosterol as chemotaxonomic marker to differentiate between "Chlorella" species (Chlorophyta) (Note). / Gors M., Schumann, R. Gustavs, L. & Karsten U.//Journal of Phycology.- 2010.-№46(6).- P. 1296-1300.
84. Lin C.S. Tolerance of soil algae and cyanobacteria to drought stress./ Lin C.S., Wu J.T.// Journal of Phycology. -2014.- №50(1).-P. 131-139.
85. Студеняк Я.І. Практикум з аналітичної хімії. Інструментальні методи аналізу. / [Студеняк Я.І., Воронич О.Г., Сухарева О.Ю. та ін.]// - Ужгород, 2014.- 129 с.
86. Дячок В.В. Розрахунок кінетики сумісного екстрагування лікарської рослинної сировини. / Дячок В.В., Іванків О.Л. // Фармацевтичний журнал.- 2012. - № 4.- С. 90-95.
- 87.Мельничук Д.О. Практикум з органічної та біологічної хімії електронний підручник за редакцією професора М.П. Вовкотруба. Навчальний посібник./ [Мельничук Д.О., Вовкотруб М.П., Мельникова Н.М. та ін.]// - Київ. – 2010.- 300 с.
88. Марченко З. Фотометрическое определение элементов: Пер. с польск./ Марченко З. // М.: Мир, - 1971, 501 с.

89. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика). В 2 кн. — Кн. 2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа./ Харитонов Ю.Я. // — М., 2001.- 350с.
90. Булатов М.И. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. 4 изд./ Булатов М.И., Калинин И.П.// Л.-1976.- 235с.
91. Болотов В.В. Практикум з аналітичної хімії. Навч. Посіб. Для студ. вищ. навч. закл. / [Болотов В.В, Сич Ю.В., Свечнікова О.М. та ін.] - Х: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки.-2003.- 240с.
92. Болотов В.В. Практикум з аналітичної хімії: Навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / [В.В. Болотов, Ю.В. Сич, О.М. Свечнікова та ін.] // Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. –240 с.
93. Аналітична хімія: навчальний посібник / О.М. Гайдукевич, В.В. Болотов, Ю.В. Сич та інш. – Х.: Основа, Вид-во НФаУ, 2000. – 432 с.
- 94.Федущак Н.К. Аналітична хімія. Основи теорії та практика./ Федущак Н.К.// Нова Книга.- 2012.-640с.
95. Кузьма Ю.Б. Аналітична хімія./ Кузьма Ю.Б. //- Львів: ЛНУ, 2001. – 297 с.
96. Луцевич Д.Д., Мороз А.С.,Грибальська О.В. Аналітична хімія: підручник.- К.:Медицина, 2009.-416с.
97. Пешкова В.М. Методы абсорбционной спектроскопии в аналитической химии / В.М. Пешкова, М. И. Громова. - М.: Высш. шк., 1976. - 280 с.
98. Цитович И. К. Курс аналитической химии : Учебник для сельскохозяйственных вузов. 5-е изд., испр. и доп . / И.К. Цитович . - М. : Высшая школа, 1985 . – 400 с.
99. Колкер А. М. Экспериментальные методы химии растворов./ Колкер А. М.// - М.: Наука. - 1997.- 598 с.
100. Ляликов Ю. С. Физико-химические методы анализа : учебное пособие для вузов / Ляликов Ю. С.. - Москва: Химия, 1974. - 480 с.
101. Другов Ю.С. Экологическая аналитическая химия./ Другов Ю.С. // - М.: 2000. - 432 с.

102. Практикум по химической защите растений : [Учеб. пособие по агр. спец. / А. И. Афанасьева, Г. С. Груздев, Л. Б. Дмитриев и др.]; Под ред. Г. С. Груздева. - М. : Колос, 1983. - 272 с.
103. Логинов Н.Я. Аналитическая химия. /Логинов Н.Я., Воскресенский А.Г., Солодкин Н.С.//М.Просвещение 1975.- 478 с.
104. Учебное пособие для студентов химико-биол. и биолого-хим. специальностей пед. ин-тов. 2-е изд., перераб. - М. : Просвещение, 1979. - 480 с.
105. Гришина Л. А. Учет биомассы и химический анализ растений: Учебное пособие/ Гришина Л. А., Самойлова Е. М.// - Москва : Изд-во Моск. ун-та, 1971. - 99 с.
106. Крешков А.П. Курс аналитической химии. Количественный метод анализа./ Крешков А.П., Ярославцев А.А.// – М.: Химия, 1982. – с. 244 – 278.
107. Панкратова Г.В. Аналитическая химия и технохимический контроль в общественном питании. /Панкратова Г.В., Жванко Ю.Н., Мамедова З.И.// – М.: Высшая школа, 1980. – с.119 – 128.
108. Шапиро С.А. Аналитическая химия. /Шапиро С.А., Шапиро М.А. //– М.: Высшая школа, 1979. – с. 281 – 315.
109. Петрухин О. М Аналитическая химия. Химические методы анализа / Под ред. Петрухина О. М. — М. : Химия, 1993. — С. 139—140.
110. Опейда Й. Глосарій термінів з хімії // Опейда Й. , Швайка О. Ін-т фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Донецький національний університет. - Донецьк: Вебер.- 2008. - 758 с.
111. Нат Т.П. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Фізико-хімічні методи аналізу». / Нат Т.П., Мураєва О.О., Панайотова Т.Д., Безцінний О.О. // Харк. нац. акад. міськ. госп-ва. – Х.: ХНАМГ, 2009. – 88с.

112. Мелентьева Г. А. Фармацевтическая химия. /Мелентьева Г. А., Антонова Л. А. // - М.: 480 с.
113. Польовий А.Н. Моделювання дифузійного опору на шляху молекул CO<sub>2</sub> в зелений листок. /Польовий А.Н. //Одеса: Вісник, 2009.-300 с.
114. Воєвода Д. В. Патент України на корисну модель №112994 за заявкою а201405765/ Спосіб культивування мікроводоростей *chlorella vulgaris*./ Воєвода Д. В. Голуб Н. Б. // МПК С12М 1/42//Опубл. 25.11.2016. Бюл. №22.
115. Горда А.І. Регуляція біосинтезу ліпідів у *chlorella vulgaris* beijer іонами Mn<sup>2+</sup> ТА Zn<sup>2+</sup>./ Горда А.І. //Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, Україна , - С.108-115
116. Peer M. Schenk. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production/ Peer M.Schenk, Skye R.Thomas-Hall// Bioenerg. Res. – 2008. – 1:20-43. – P. 20–43.
117. Devi M.Prathima. CO<sub>2</sub> supplementation for microalgae lipid accumulation under mixotrophic microenvironment. Effect of sparging period and interval / Devi M.Prathima, S.Venbeata Mohan // Bioresource technology. Accepted manuscript, 2012.– 29 p.
118. Yiong Wei. Double CO<sub>2</sub> fixation in photosynthesis-fermentation model enhances algal lipid synthesis for biodiesel production / Yiong Wei, Gao Chunfang, Yan Dong, Wu Chao, Wu Origyu // Bioresource technology, 2010.– v.101.– P. 2287–2293.
119. Becker E.W. Microalgae: biotechnology and microbiology/ E.W.Becker. – Cambridge University Press, 1994. – 301 p.
120. Senthil Chinnasamy. Biomass production potential of a wastewater alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 under elevated levels of CO<sub>2</sub> and temperature / S.Chinnasamy, B.Ramakrishnan, A. Bhatnagar, K.C.Das // International journal of molecular sciences. – 2009. – №10. – P. 518–532.
121. Yeh Kuei-Ling. pH-stat photoheterotrophic cultivation of indigenous *Chlorella vulgaris* ESP-31 for biomass and lipid production using acetic acid as the carbon

- source / Yeh Kuei-Ling, Chen Chun-Yen, Chang Jo-Shu // *Biochemical Engineering J.*, 2012.– v. 64.– P. 1–79
122. Mayo A.W. Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialgal *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria / Mayo A.W. // *Water Environment Research.* – 1997. – Vol. 69, №1. – pp. 64–72.
123. Утипис В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей./ Утипис В.В. //– Рига: Зинанте, 1983. – 240 с.
124. Трифонов В.Ю. Использование дымовых газов, образующихся в процессе термической переработки твердых бытовых отходов, для выращивания микроводоросли *Spirulina platensis* / Трифонов В.Ю. // *Экологический вестник России.* – 2009. – №9. – С. 28–32.
125. Roessler P. Environmental control on glycerolipid metabolism in microalgae: commercial implications and future research directions. / Roessler P. // *J. Phycol.* – 1990. – 26, N 3. – P. 393-399.
126. Behrens P.W. Microalgae as a source of fatty acids./ Behrens P.W., Kyle D.J. // *J. Food Lipids.* – 1996. – 3, N 4. –P. 259-272.
127. Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток./ Перт С. Дж. // – М.: Мир, 1978. – 331 с.
128. Стейниер Р. Мир микробов./ Стейниер Р. Эдельберг Э., Ингрэм Дж. // Т. 2. – М.: Мир, 1979. – 332 с.
129. Шлегель Г. Общая микробиология. / Шлегель Г. //– М.: Мир, 1987. – 566с.
130. Чуб І. М. Мікробіологія і хімія води : конспект лекцій. / І .М. Чуб. — Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2019. – 122 с
131. Про альтернативні види рідких і газоподібних палив : Закон України № 1391-ХІУ від 14.01.2000 р. [Електронний ресурс] - Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua>.
132. Про альтернативні джерела енергії : Закон України № 555-ІУ від 20.02.2003 р. [Електронний ресурс] - Режим доступу : <https://zakon.rada.gov.ua>.



133. Про затвердження програми "Етанол". Постанова Кабінету Міністрів України № 1044 від 04.07.2000 р. [Електронний ресурс] - Режим доступу : <https://zakon.rada.gov.ua>.
134. Про стан використання біодизелю та біоетанолу в світі та України. Аналітична записка. НАЄР. [Електронний ресурс] - Режим доступу: <https://www.naer.org>.
135. Калетник Г.М. Розвиток ринку біопалив в Україні: Монографія / Калетник Г.М. //- Київ: Аграрна наука, 2008. – 464 с.
136. Шпичак О.М. Економічні проблеми виробництва біопалива та продовольча безпека України. / О.М. Шпичак. // Економіка АПК. - 2009. - № 8. - С. 11-19.
137. Золотарьова О. Куди прямує біопаливна індустрія? / О. Золотарьова, Шнюкова Є. -Вісник НАН України, 2010. – № 4. – С. 10-20.
138. Ehrenberg R. Algae as biofuel still rough around the edges / Ehrenberg R. - Sciencenews. January 26th, 2010 [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://www.sciencenews.org>
139. Chisti Y. Biodiesel from microalgae./ Chisti Y// Biotechnol. Adv. - № 25.- 2007. -P.294-306.
140. Ho S.H. Perspectives on microalgal CO<sub>2</sub>-emission mitigation systems-A review./ Ho S.H., Chen C.Y., Lee D.J., Chang J.S., // Biotechnol. Adv.- №29.- 2011.- P. 189-198.
141. Гринюк І. Біопаливо з водоростей / Гринюк І. //- Агросектор, 2009. - № 6 (36). – С. 26- 27.
142. Концепція нового етапу цільової комплексної програми наукових досліджень НАН України «Біомаса як паливна сировина» («Біопалива») на 2010-2012 рр. Затверджена постановою Президії НАН України від 23.06.2010 № 199. – Київ, 2010. – 4 с.
143. Манаков М.Н. Победимский Д.Г. Теоретические основы технологии микробиологических производств. /Манаков М.Н., Победимский Д.Г. // - М.: Агропромиздат, 1990. - 272 с.

144. Герасименко В. Г. Біотехнологія Частина II. Спеціальні біотехнології. / Герасименко В. Г. //2006р [Електронний ресурс] - Режим доступу: [https://lifelib.info/microbiology/biotechnology\\_1/156.html](https://lifelib.info/microbiology/biotechnology_1/156.html).
145. Катишева В.В. Встановлення виду інгібування біохімічного процесу поглинання вуглекислого газу. /Дячок В.В., Катишева В.В.// м. Львів, 2018. Науковий вісник НЛТУ України, 28(5), с. 61-64., Україна, с. 61-64.
146. Катишева, В.В. /Інгібітори та активатори процесу поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікрободоростям. Дячок, В.В., Катишева, В.В, Гуглич, С.В, Мандрик, С.Т.// м. Одеса, 2018р., Наукові праці, 82(1) с. 77-82.
147. Катишева В.В. /Дослідження впливу оксидів нітрогену на швидкість поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікрободоростями у водному середовищі. Дячок, В. В.; Мандрик, С. Т.; Катишева, В. В.; Гуглич, С. І. // Львів, 2018 р, Вісник Національного університету „Львівська політехніка”, с.171-176.
148. Патент України на корисну модель №125539 за заявкою u201712771/ Спосіб очищення газових викидів за участі мікрободоростей. МПК C02F 3/34 //Опубл. 10.05.2018 р. Бюл. №9.
149. Мальований М.С. Особливості кінетики екстрагування із твердих тіл клітинної будови /М.С.Мальований, В.В.Дячок // Наук. праці Одес. нац. акад. харчових технологій. - 2008. - № 32. - С. 12-16.
150. Дячок В.В. Моделювання нетрадиційних випадків перебігу екстракційних процесів / В.В.Дячок // Вопросы химии и химической технологии. – 2008. - №6. – С. 209- 212.
151. Дячок В.В. Деякі аспекти екстрагування суміші рослинної сировини / В.В.Дячок, М.С.Мальовани // Энерготехнологии и ресурсосбережение. – 2010. - №2. - С. 72-75.
152. Dyachok V. Extraction process of intracellular substance / Chemistry & chamental technology./ Dyachok V. // – 2010. - Vol. 4, №2.- P. 163-167.

153. Мальований М.С. Екстрагування суміші рослинної сировини. Розрахунок процесу / М.С.Мальований, В.В.Дячок // Хімічна промисловість України. – 2010. - № . 4– С. 17-21.
154. Pavliuk Inessa. Kinetics of biologically active compound extraction from hops strobiles extraction cake / Inessa Pavliuk, Vasyl Dyachok, Volodymyr Novikov, Nataliya Ilkiv // Chemistry & chemical technology. - 2017. - № 11, №4. P. 487–491.
155. Дячок В.В. До питання розроблення екологічно-безпечних фітотехнологій / Дячок В.В., Іванків О.Л. // Вісник НУ Львівська політехніка, Хімія, технологія речовин та їх застосування.-2009.- № 609.- С. -233-237.
156. Дячок В.В. Масообмін в біологічних процесах. / В.В. Дячок, О.Б. Левко //Вісник НУ «Львівська політехніка» Хімія, технологія речовин та їх застосування . – 2013. – № 761. – С. 289-293.
157. Дячок В.В. Вивчення процесу масообміну при перетворенні вуглекислого газу у метан біологічним методом / В. В. Дячок, О. Б. Левко // Екологічна безпека. - 2014. - № 1. - С. 31-35.