

МАСООБМІН ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ МІКРОВОДОРОСТЕЙ

¹Дячок В.В., д-р. техн. наук, професор, ²Запорожець Ю.В. канд. техн. наук, доцент,

²Левко О.Б. магістр

¹Національний університет “Львівська Політехніка”, м. Львів

²Національний університет харчових технологій, м. Київ

Наведено результати експериментального дослідження кінетики приросту біомаси мікробіодоростей при поглинанні вуглекислого газу за участі мікробіодоростей типу хлорели. Мікробіодорості мають високі темпи приросту, що сприяє швидкому перетворенню вуглекислого газу у біомасу. Запропоновано чотири етапи процесу біохімічного поглинання вуглекислого газу мікробіодоростями при його барботуванні через водний розчин. Доведено ферментативний механізм процесу поглинання вуглекислого газу та приросту мікробіодоростей.

Here were shown the results of an experimental study of kinetic growth of microalgae biomass while absorbing carbon dioxide with type chlorine microalgae involved. The microalgae has higher growth rate which allows faster carbon dioxide to biomass conversion. Four stages of microalgae biochemical carbon dioxide absorption processes were offered after sparging it through aqua solutions. Microalgae - a source of unique biochemical compounds. Proved enzymatic mechanism of the process of absorption of carbon dioxide and microalgae growth.

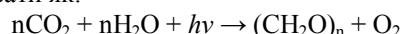
Ключові слова: вуглекислий газ, фотосинтез, мікробіодорості, дифузія, математична модель, кінетика.

Розширення сфери практичної діяльності людства, пошуки альтернативних джерел одержання біологічно-активних речовин спонукало до використання з цією метою біомасу мікроскопічних водоростей. Усебічні дослідження цих організмів відкрили широкі можливості їх використання в різних галузях діяльності людини. Знання умов їх розвитку та ступеня поширення у водоймах і на відповідних субстратах, з'ясування особливостей метаболізму за різних умов природного середовища та культивування дозволяють вважати, що водоростям належить значна роль у вирішенні проблем охорони навколишнього середовища, стану екології, продовольчих питань, медицини, тощо.

Мікробіодорості широко досліджуються з метою з'ясування можливості їх застосування, як додаткового джерела білку та окремих амінокислот, ряду вітамінів, компонентів пігментного комплексу, зокрема фікобілінових пігментів. У наш час водорості розглядаються, як перспективні біосистеми, здатні до ефективного перетворення енергії світла в хімічну енергію водню – альтернативного та екологічно чистого палива.

У наш час лідерами в розробці та освоєнні досягнень у цій галузі є США, Японія, країни Західної Європи, які мають багаторічний досвід отримання та використання біомаси водоростей та її індивідуальних біополімерів у харчовій промисловості, сільському господарстві, медицині. В останні десятиріччя є певні досягнення і в Україні. Здійснюється масштабне культивування окремих видів мікробіодоростей, головним чином *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina* та інших.

Chlorella vulgaris – це одноклітинна зелена водорість, має вигляд мікроскопічної нерухомої кульки до 15 мкм у діаметрі. Використання мікробіодоростей має ряд суттєвих переваг, завдяки чудовій здатності мікроорганізмів адаптуватися у край несприятливих умовах. Хлорела невибаглива до умов існування і здатна до інтенсивного розмноження, тому зустрічається всюди: у прісних водоймах, морях і ґрунтах. Водорості ростуть у 7...10 разів швидше за наземні рослини і відповідно поглинають більше двоокису вуглецю. Для існування їм потрібен вуглекислий газ, який вони беруть з навколишнього середовища, і за допомогою сонячної енергії вони перетворюють його на біомасу. Сумарну реакцію окисного (тобто аеробного) фотосинтезу можна записати як:



де: $h\nu$ - енергія сонячного світла, а $(\text{CH}_2\text{O})_n$ узагальнена формула біомаси.

Процес біологічного поглинання вуглекислого газу мікробіодоростями при його барботуванні через водний розчин умовно можна поділити на чотири стадії [5]:

– *перша стадія*; підвід вуглекислого газу із основного об'єму розчину до поверхні колоній біомаси мікробіодоростей. Кількісно цей процес можна описати рівнянням масовіддачі:

$$dM/dt = \beta F(C - C_n); \quad (1)$$

де β – коефіцієнт масовіддачі від основного об'єму розчину до поверхні границі колоній мікроводоростей; M – маса вуглекислого газу, що перейшла з основного об'єму розчину до поверхні границі колоній мікроводоростей; t – час; F – площа поверхні масообміну; C , C_n – концентрація вуглекислого газу в основному об'ємі розчину і на поверхні границі колоній мікроводоростей.

- *друга стадія*; дифузія вуглекислого газу від поверхні границі колоній мікроводоростей, через міжклітинне середовище до поверхні мембран клітин мікроводоростей. Проникнення розчиненого в рідкій фазі вуглекислого газу до поверхні мембрани клітини проходить шляхом молекулярної дифузії з подальшим транспортом його через клітинну мембрану у внутрішній об'єм. Кількісно процес міжклітинного масопереносу описується рівнянням:

$$D_m = \varepsilon \cdot D; \quad (2)$$

де ε – коефіцієнт, що визначає пористість колоній мікроводоростей; D_m – коефіцієнт дифузії вуглекислого газу в міжклітинному середовищі колоній мікроводоростей; D – коефіцієнт дифузії вуглекислого газу у воді:

- *третьа стадія*; проникнення вуглекислого газу через клітинну мембрану у внутрішній об'єм клітини мікроводорості. Проникнення вуглекислого газу через клітинну мембрану може здійснюватися, як за рахунок активного, так і пасивного транспорту. У випадку пасивного транспорту процес має дифузійний характер, та може бути представлений рівнянням:

$$\gamma = -D_c \text{grad} C; \quad (3)$$

де γ – густина об'ємного потоку вуглекислого газу через клітинну мембрану; C – концентрація вуглекислого газу в міжклітинному середовищі; D_c – коефіцієнт дифузії вуглекислого газу через клітинну мембрану.

- *четверта стадія*; фотосинтез. Шлях дифузії закінчується в хлоропластах, тут вуглекислий газ вступає в біохімічну реакцію фотосинтезу. Кінетика фотосинтезу описується рівнянням:

$$\frac{dC}{dt} = k C_{CO_2} C_{H_2O}; \quad (4)$$

де k – константа швидкості біохімічної реакції фотосинтезу.

Швидкість біохімічної реакції пропорційна концентрації вуглекислого газу – C_{CO_2} у внутрішньому об'ємі клітини, оскільки концентрація води у внутрішньому об'ємі клітини є достатньо значною і постійною.

$$u_p = k C_{CO_2}; \quad (5)$$

В умовах стаціонарного стану кількість вуглекислого газу, що вступає в реакцію фотосинтезу рівна кількості вуглекислого газу, що проникає через клітинну мембрану у внутрішній об'єм клітини:

$$\beta_c (C - C_{CO_2})_p = k C_{CO_2} \quad (6)$$

де β_c – коефіцієнт масопровідності через клітинну мембрану.

Визначивши із рівняння (6) C_{CO_2} і підставивши його у рівняння (5) отримаємо вираз для визначення швидкості реакції фотосинтезу:

$$u_p = C \frac{k \beta_c}{k + \beta_c}; \quad (7)$$

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

$$k \gg \beta_c; \quad (8)$$

Тоді в знаменнику рівняння (7) можна знехтувати величиною $-\beta$ і швидкість реакції дорівнюватиме:

$$u_p = \beta_c C; \quad (9)$$

З рівняння (9) випливає, що швидкість реакції фотосинтезу визначається швидкістю дифузії (транспорту) вуглекислого газу через клітинну мембрану (дифузійна кінетика).

Якщо ж швидкість реакції буде значно менша від швидкості транспорту вуглекислого газу через клітинну оболонку:

$$k \ll \beta_c; \quad (10)$$

То в рівнянні (7) можна знехтувати величиною $-k$, тоді швидкість реакції фотосинтезу дорівнюватиме:

$$u_p = k C; \quad (11)$$

Згідно правила адитивності сумарний коефіцієнт масопереносу – K визначається:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\beta} + \frac{l}{D_m} + \frac{\delta}{D_c} + \frac{1}{k}}; \quad (13)$$

де l – умовний середній розмір колоній мікроводоростей; δ – товщина мембрани клітини мікроводорості; D_c – коефіцієнт дифузії вуглекислого газу через клітинну мембрану; k – константа швидкості біохімічної реакції фотосинтезу.

Залежність константи швидкості біохімічної реакції – k від температури – T має вигляд;

$$k = k_0 e^{\frac{E}{RT}}; \quad (14)$$

Прологарифмувавши рівняння (15) та позначивши, $\lg k$ через B , а $\frac{E}{4,575}$ через A дістанемо ви-

раз відомий під назвою рівняння Арреніуса:

$$\lg k = B - \frac{A}{T}; \quad (15)$$

Величини A і B є константами даної реакції. Якщо за експериментальними даними побудувати графік залежності, $\lg k = f(\frac{1}{T})$, то ця залежність опишеться прямою лінією, тангенс кута нахилу якої дозволить визначити величину – A (рис. 3). Звідти енергія активації; $E = 4,575A = 4,575tga$.

Для вивчення впливу температури на процес поглинання вуглекислого газу мікроводоростями проводились експериментальні дослідження у трьох фотобіореакторах. Апаратне оформлення досліджень забезпечувало достатню кількість вуглекислого газу мікроводоростям у всьому об'ємі фотобіореакторів. Організація перемішування та освітлення сприяло процесу поглинання вуглекислого газу, що супроводжувалось зростанням кількості клітин мікроводоростей (біомаси). Температура середовища культивування у фотобіореакторах становила $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $28 \pm 1^\circ\text{C}$, $35 \pm 1^\circ\text{C}$ відповідно. pH середовища культивування – 6,5. Відбір біомаси водоростей здійснювали з встановленим інтервалом днів. Визначення концентрації біомаси водоростей проводили фотоколориметричним методом.

При барботуванні вуглекислого газу через водний розчин у фотобіореакторах, підвід вуглекислого газу з основного об'єму розчину до поверхні границі колоній мікроводоростей є досить інтенсивним. Тому коефіцієнт масовіддачі – β є відносно значною величиною, а оберненим його значенням (див. (13)) можемо знехтувати. Враховуючи порисність колоній мікроводоростей ($\varepsilon=0,4$), можна припустити конвективний масоперенос вуглекислого газу в міжклітинному об'ємі колоній, а відтак другим коефіцієнтом знаменнику виразу (13) також нехтуємо. Транспорт вуглекислого газу через клітинну мембрану та біохімічна реакція фотосинтезу супроводжується процесом приросту біомаси. Приріст біомаси пропорційний кількості поглинутого вуглекислого газу (CO_2):

$$\frac{dN}{dt} \sim \frac{dM}{dt} \sim \frac{dm_{\text{CO}_2}}{dt}; \quad (16)$$

де $\frac{dN}{dt}$ – швидкість приросту клітин мікроводоростей в середовищі; $\frac{dM}{dt}$ – швидкість приросту маси мікроводоростей в середовищі, $\frac{dm_{\text{CO}_2}}{dt}$ – швидкість поглинання вуглекислого газу.

Таким чином, сумарне значення коефіцієнту масопереносу – K пропорційне сумі двох останніх величин знаменника рівняння (13), або коефіцієнту приросту біомаси – k_m :

$$k_m \sim K. \quad (17)$$

Результати кінетики експериментальних досліджень приросту біомаси мікроводоростей при поглинанні вуглекислого газу за різних температур представлені на рисунку 1. Це є типові криві приросту і дозволяють виділити чотири фази приросту, які проходять у певній послідовності: початкову, або лаг-фазу, фазу експоненціального росту, стаціонарну фазу, фази осідання культури.

Як видно з рисунку 1 кінетика приросту суттєво залежить від температури.

Отримані експериментальні криві дослідження кінетики добре описуються рівнянням:

$$N = N_0 e^{-k_m t}; \quad (18)$$

Рівняння (19) в логарифмічних координатах описує пряму лінію тангенс кута нахилу якої дозволяє визначити коефіцієнт приросту – k_m при кожному значенні температури.

$$\ln N = \ln N_0 + k_m t; \quad (19)$$

Результати перетворень зображено на рис. 2. Коефіцієнт приросту біомаси мікродоростей при досліджуваних значень температур становив $k_{m20} = 0,10 \text{ доба}^{-1}$; $k_{m28} = 0,12 \text{ доба}^{-1}$; $k_{m30} = 0,15 \text{ доба}^{-1}$ відповідно.

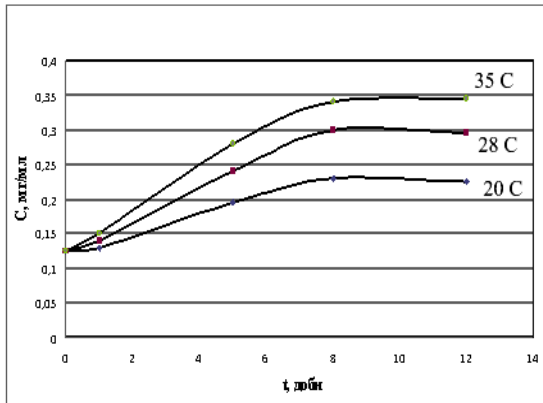


Рис. 1 – Кінетичні криві приросту концентрації мікродоростей від часу за відповідних температур

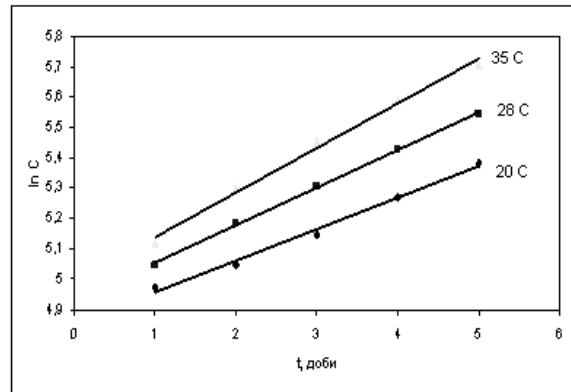


Рис. 2 – Кінетичні криві приросту логарифму концентрації мікродоростей від часу за відповідних температур

Отриманий результат дозволяє встановити залежність коефіцієнту приросту мікродоростей від температури. Аналітичний вираз цієї залежності має вигляд:

$$k_m = 11,35 \cdot 10^{-4} e^{-\frac{2073}{T}}; \quad (20)$$

Та розрахувати значення енергії активації за (15), яке становить $E = 4,57 \text{ кДж/моль}$ (Рис. 3).

Детальніший аналіз отриманих експериментальних даних, зокрема залежність швидкості приросту біомаси мікродоростей від часу за різних температур представлено на рисунку 4. Як слідує з рисунку на швидкість суттєво впливає температура. Максимального значення приросту біомаси досягається при температурі 36°C за дві доби. За вищих температур спостерігалася загибель мікродоростей, при менших значеннях температур швидкість наближається до максимального приросту, що засвідчує ферментативний механізм досліджуваного процесу. За таких обставин, швидкість приросту біомаси залежить не лише від концентрації вуглекислого газу, а і від кількості ферментів. При стаціонарному наборі ферментів приріст біомаси є постійним, що і слідує з рисунку 4. Кінетика ферментативних реакцій описується рівнянням Міхаеліса-Ментена, та записується наступним чином:

$$U = U_{\max} \frac{[S]}{k_M + [S]}. \quad (21)$$

де k_M – константа Мехаеліса-Ментен, яка характеризує швидкість ферментативної реакції в залежності від концентрації субстрату у стаціонарному стані процесу; $U_{\max}$ – максимальна швидкість ферментативної реакції; S – концентрація субстрату (в даному випадку концентрації вуглекислого газу).

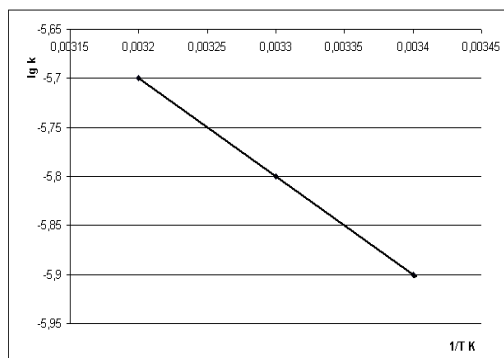


Рис. 3 – Залежність логарифму коефіцієнту приросту - k_m мікродоростей від зворотної температури - T

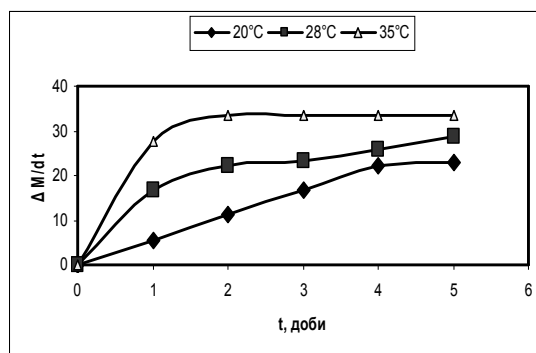


Рис. 4 – Швидкість приросту біомаси від часу за відповідних температур

Дане рівняння пов'язує швидкість біохімічної реакції з концентрацією субстрату. У нашому випадку концентрацією вуглекислого газу. В такому випадку має місце ферментативний транспорт вуглекислого газу через клітинну мембрану (активний транспорт) та біохімічна реакція фотосинтезу, яка каталізується відповідними ферментами. Лімітуючим фактором приросту біомаси є транспорт вуглекислого газу через клітинну мембрану та біохімічна реакція фотосинтезу. Тому визначивши константу Мехаеліса-Ментен на основі експериментальних даних досліджень кінетики поглинання вуглекислого газу, слід уточнити, що вона в цілому і визначається значенням суми двох останніх членів знаменнику рівняння (13) тоді:

$$K \sim k_m \sim k_M \quad (22)$$

Експериментальні дослідження вивчення впливу концентрації вуглекислого газу на швидкість приросту біомаси мікроводоростей проводились у трьох фотобіореакторах. Перший – контрольний, де у живильному середовищі містились мікроводорості. У другому барботували повітря, а в третьому – вуглекислий газ. Температура середовища культивування становила $20 \pm 1^\circ\text{C}$, при рН середовища – 6,5. Оскільки в контрольному біореакторі відсутнє барботування, при певній концентрації мікроводоростей у ній відбувається їх асоціація, укрупнення з подальшим осідання і крива, яка описує їх приріст в порівнянні з іншими найшвидше прямує донизу. Залишкова кількість мікроводоростей що залишилась у розчині продовжує ділитися і крива повертає верх (рис. 6). При барботуванні повітря чи вуглекислого газу утворені асоціації мікроводоростей у фотобіореакторі підтримуються у середовищі барботування, тому криві приросту у кожному конкретному випадку напрямлені верх (рис. 6).

Перетворивши рівняння (21) до вигляду: $\frac{1}{U} = \frac{1}{U_{\max}} + \frac{k_m}{U_{\max}[S]}$; в системі координат, $\frac{1}{U} = f\left(\frac{1}{S}\right)$,

визначали максимальну швидкість приросту мікроводоростей - $U_{\max}$ та константу Міхаеліса-Ментена - k_M у трьох фотобіореакторах. У першому – контрольний - $U_{\max} = 0,07$ г/добу, $k_M = 3,5 \cdot 10^{-4}$ доба⁻¹; у другому $U_{\max} = 0,07$ л/добу, $k_M = 4,2 \cdot 10^{-4}$ доба⁻¹; у третьому $U_{\max} = 0,104$ л/добу, $k_M = 4,2 \cdot 10^{-2}$ доби⁻¹ (рис. 7).

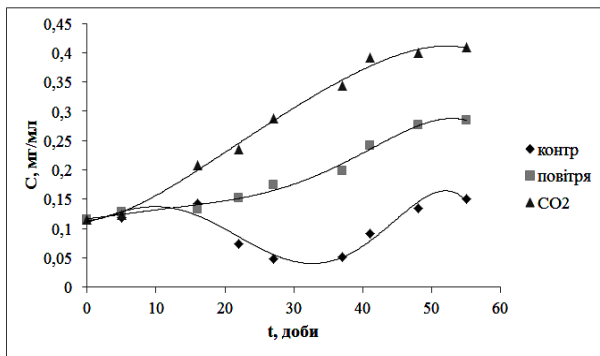


Рис. 6 – Криві приросту біомаси мікроводоростей

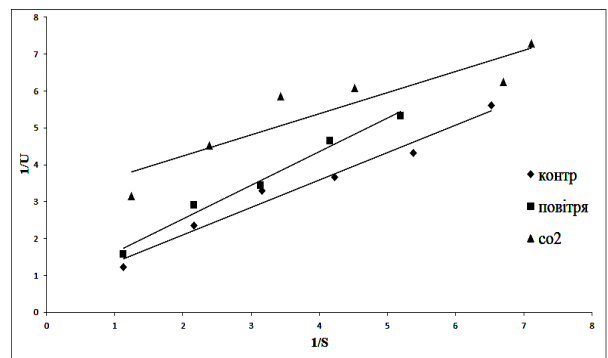


Рис. 7 – Залежність оберненої швидкості приросту мікроводоростей від концентрації субстрату

Висновок. Вивчено вплив температури на процес поглинання вуглекислого газу хлорофілсинтезуючими мікроводоростями. Визначено значення енергії активація біохімічної реакції фотосинтезу в умовах експерименту, коефіцієнти приросту біомаси за умови відсутності барботування повітрям, барботування повітрям та вуглекислим газом. Встановлено приріст біомаси за умови барботування вуглекислим газом, що дозволяє поєднувати процеси культивування мікроводоростей з очищенням газових викидів від головного парникового газу – діоксиду вуглецю. Визначено значення максимальної швидкості приросту мікроводоростей - $U_{\max}$ та константу Міхаеліса-Ментена - k_m для трьох досліджуваних випадків культивування.

Література

1. Нетрусов А.И, Бонч-Осмоловская Е.А, Горленко В.М. Экология микроорганизмов: Учебник, для студ. Вузов; Под ред. А.И. Нетрусова. - М.: Издат. центр "Академия", 2004. - 272 с.
2. Калюжний С.В. Біотехнологія, кінетичні основи мікробіологічних процесів. – М.: ВШ, 2000. – 296 с.
3. Різниченко Н.Ф. Математичні моделі біологічних процесів. - М: МГУ, 1996. - 300 с.
4. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.

5. Dyachok V., Huhlych S. Mathematical design of biological processes of complicated mass transfer Sciens and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences, III(5), ISSUE 41, 2015, P. 91-94.

УДК 631.417:547.992

МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ СТВОРЕННЯ КОМПЛЕКСНИХ МІНЕРАЛЬНО-ОРГАНІЧНИХ ДОБРІВ З ВИКОРИСТАННЯМ КІСТКОВОГО БОРОШНА

Степанюк А.Р., канд. техн. наук, доцент, Марушевський С.О., магістрант
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут», м. Київ

Виконано моделювання процесу перемішування компонентів комплексного добрива.

Modeling the process of mixing the components of complex fertilizers.

Ключові слова: комплексне добриво, перемішування, кісткове борошно.

Останні роки були надзвичайно важкими для нашої країни як у сферах промисловості так і для народного господарства. Незважаючи на сучасний технічний розвиток, надзвичайний потенціал ресурсів та багаті запаси родючих ґрунтів, аграрний комплекс України також не оминули економічні, енергетичні та продовольчі проблеми. Тому, сільське господарство, а саме пропонується розглянути землеробство, потребує запровадження нових екологічно чистих, науково-обґрунтованих та економічно-доцільних рішень вище згаданих проблем, для підвищення врожайності та якості сільськогосподарських культур.

Проблема низької врожайності є надзвичайно актуальною, так як порівнюючи Україну з іншими провідними країнами виробниками та постачальниками зернових, незважаючи на кращі кліматичні умови, врожайність є порівняно низькою. З кожним роком зменшується кількість необхідних рослинам речовин та гумусу. Тому, для її підвищення необхідно певним чином покращувати якість ґрунтів, збільшувати кількість корисних компонентів, мікроорганізмів та мікроелементів, що в них присутні. Одним із найпростіших та економічно вигідних способів є внесення добрив, як мінеральних так і органічних [1].

Добрива мають багатофункціональне значення в агроценозі, вони являються не тільки джерелом поживних речовин для рослин, а й підвищують їх мобілізацію в ґрунті, енергію життєвих процесів в ньому, змінюють його властивості, виконують багато екологічних функцій. Існує широке різноманіття різних видів добрива, проте, неможливо віддавати перевагу лише одному із них, так як він містить не весь спектр, що потребують різні сільськогосподарські культури. Доцільно використовувати комплексі органо-мінеральні добрива які містять два, три і більше елементів живлення (азот, фосфор, калій, мікроелементи), а також органічну складову та гумінові кислоти. Використовувати комплексні добрива економічно вигідне, одночасно з цим якість ґрунтів вища та вирішується проблема з утилізацією певних органічних відходів, що є хорошим показником для народного господарства.

Тому запропоновано розглянути складне органо-мінеральне комплексне добриво, яке буде мати склад який відповідатиме вимогам кліматичних та аграрних зон. Для підвищення поживності до мінерального добрива доцільно додавати органічну частку, гумати, кісткове борошно та бентонітові глини. Кожен компонент має певний склад необхідних для рослин речовин, свої фізико-механічні та хімічні властивості.

Проте через велику кількість компонентів, їхню різну природу, властивості та складну структуру, постає одна із проблем виготовлення складного органо-мінерального добрива, а саме якісне однорідне перемішування вихідних компонентів до повного розчинення у воді.

Задачею дослідження є дослідження ефективності процесу перемішування компонентів, що входять до складу комплексного добрива, встановлення залежності якості перемішування від технологічних параметрів процесу та розробка відповідного обладнання. Необхідно підібрати фізичну та математичну модель процесу перемішування, створити експериментальну установку щоб провести дослідження, для перевірки, підтвердження та обґрунтування адекватності запропонованих моделей.

Для цього запропоновано фізичну модель процесу перемішування органо-мінерального добрива з використанням кісткового борошна та математичну модель цього процесу. Дослідження проводиться використовуючи апарат з механічним лопатевим перемішувачем [2].

Під час приготування суспензії метою перемішування являється зниження концентраційних градієнтів в об'ємі апарату. Найбільш важливими характеристиками перемішувача є ефективність