

КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

*Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису*

ДІГТЯР СЕРГІЙ ВІКТОРОВИЧ

УДК (57+631.147):582.232

ДИСЕРТАЦІЯ

**РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ПЕРЕРОБКИ МАСОВИХ ФОРМ
ГІДРОБІОНТІВ**

Спеціальність 03.00.20 – біотехнологія (технічні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 С.В. Дігтяр

Науковий керівник
Никифоров Володимир Валентинович,
доктор біологічних наук, професор

*Примірник дисертації ідентичний
за змістом тиним примірникам*

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д.Н.088.03.05
о.т.н. професор



 Крусір Г.В.

Одеса – 2019

АНОТАЦІЯ

Дігтяр С.В. Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – Біотехнологія. – Одеська національна академія харчових технологій Міністерства освіти і науки України, Одеса, 2019.

У дисертації вирішено завдання щодо розробки безвідходної біотехнології отримання біопалива II генерації (метановмісної газової суміші) за використанням нового, відновлювального субстрату – біомаси ціаней та застосуванням дигестату як органо-мінерального добрива для потреб сільського та лісового господарства.

Досліджено й розкрито фізико-хімічний та біологічний аспекти процесу біометаногенезу, встановлено послідовність біохімічних реакцій при виробництві біогазу із СЗВ та з'ясовано їх особливості. Визначено видовий склад вихідного субстрату для біометаногенезу та його мікробіологічні характеристики. Встановлено хімічний склад зразків біогазу різного походження та здійснено порівняльний аналіз їх фізичних властивостей.

Вдосконалено традиційну біотехнологію отримання біогазу за рахунок використання нового субстрату – надлишкової органічної речовини гідробіонтів з плям «цвітіння», яка складається в основному з біомаси ціанобактерій. Розроблено новий екологічно безпечний технологічний процес, що забезпечує раціональне використання відновлювальних природних ресурсів (утилізацію гідробіонтів).

Обґрунтовано доцільність застосування як енергетичного першоджерела надлишкової біомаси ціанобактерій, яка утворюється під час «цвітіння» водойм. Змодельовано процес біометаногенезу у лабораторних умовах. Визначено еколого-економічне значення СЗВ та перспективи ефективного використання їх біомаси та обґрунтовано наукові засади безпечної біотехнології переробки біомаси ціаней.

Розроблено віртуальний комплекс технологічного процесу виробництва метану та добрива з моно- та мультисубстратів на основі

біомаси ціанобактерій та інших масових форм гідробіонтів, а також традиційних джерел органічної речовини (відходи харчової промисловості та сільськогосподарського виробництва, листовий опад зелених зон населених пунктів, активний мул і осад очисних споруд тощо).

Результати досліджень використовуються в навчальному процесі Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського та Полтавського національного педагогічного університету імені В.Г. Короленка. Практичні рекомендації застосовуються у природоохоронній діяльності об'єкту природно-заповідного фонду України – парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва у м. Кременчук «Ювілейний», а також на комплексних очисних спорудах КП «Кременчукводоканал».

Ключові слова: біотехнологія, гідробіонти, ціанобактерії, евтрофікація, метаногенез, біоконверсія, біоенергетика, біодобриво.

ABSTRACT

Digtiar S.V. Development of the biotechnology for hydrobionts mass forms processing. – Manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Technical Sciences (PhD): Specialty 03.00.20 – Biotechnology. – Odesa National Academy of Food Technologies of the Ministry of Education and Sciences of Ukraine, Odesa, 2019.

In the Thesis solved the issue of the development of non-waste biotechnology for receiving the 2nd generation biofuel (gas mixture containing methane) with the use of a new renewable substrate – biomass of cyanobacteriae and further application of a digestate as organic and mineral fertilizer for the purposes of agriculture and forestry. Physical and chemical aspects of bio-methanogenesis were disclosed and researched; the sequence of bio-chemical reactions in production of biogas from blue-green algae was established and their features were determined.

The species composition of the initial substrate for bio-methanogenesis and its microbiological properties were determined. The chemical composition of biogas samples of different origin has been established and comparative analysis of their

physical properties has been carried out.

The traditional biotechnology of biogas production has been improved through the use of a new substrate – an excess hydrobionts organic matter from «blooming» spots, which consists mainly of the cyanobacteria biomass. A new environmentally safe technological process, which ensures rational use of natural resources, has been developed.

The practicability of the use of a cyanobacteria biomass that appears during the «bloom» of water reservoirs has been substantiated. The ecological and economic importance of blue-green algae and prospects of their biomass use were determined, and the scientific foundations for safe cyanobacteria biomass processing have been substantiated.

The virtual complex of technological process for the production of methane and fertilizer from mono- and multisubstrates based on cyanobacteria biomass and other hydronionts mass forms, as well as traditional sources of organic matters (like food industry and agricultural wastes, leaf litter from green zones of populated areas, activated sludge of waste treatment facilities, etc.) has been developed.

The results of the research are used in the educational process of Kremenchuk Mykhailo Ostrohradskiy National University and Poltava V.G. Korolenko National Pedagogical University. Practical recommendations are applied during the environmental activities at the natural reserve fund of Ukraine and reserve fund object – the «Yuvileinyi» park, a monument of landscape art in the city of Kremenchuk, as well as at the water treatment facilities of the «Kremenchukvodokanal» utility company.

Key words: biotechnology, hydrobionts, cyanobacteria, eutrophication, methanogenesis, bio-conversion, bio-energetics, bio-fertilizer.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у виданнях, що індексуються у МНБД («SCOPUS»)

1. V. Nykyforov, M. Malovanyu, T. Kozlovs'ka, O. Novokhatko, **S. Digtiar** The biotechnological ways of blue-green algae complex processing. // *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. – Kharkov, 2016. – № 5/10 (83). – P. 11–18. *Особистий внесок – експериментальні дослідження.*

Статті у фахових виданнях України

2. Никифоров В.В., Козловская Т.Ф., **Дегтярь С.В.** Гидробионты как новый субстрат для получения клар-газа. // *Екологічна безпека*, Кременчук, 2008, – № 2 (2). – С. 28–30. *Особистий внесок – дослідження ефективності біоконверсії органічної речовини гідробіонтів з метою отримання біогазу.*

3. Alferov V.P., Pronin V.M., Shmandiy V.M., Nikiforov V.V., **Digtiar S.V.**, Kharlamova E.V. Some ways for using of pollution biomass. // *Екологічна безпека*, Кременчук, 2010, – № 1 (9). – С. 9–13. *Особистий внесок – аналіз шляхів переробки біомаси гідробіонтів з плям «цвітіння».*

4. Зюман Б.В., **Дігтяр С.В.**, Плакущий В.О. Результаты дослідження екологічної ситуації на каскаді водосховищ річки Дніпро. *Нові технології*, 2013.–№ 1–2 (39–40). – С. 106–109. *Особистий внесок – підбір статистичних даних та літературного матеріалу щодо гідрологічного режиму дніпровських водосховищ.*

5. **Sergy Digtiar**. Qualitative and quantitative characteristics of biogas of cyanea organic mass // *Environmental Problems*. Lviv Polytechnic Publishing House, 2016.–V. 1.–№ 2 (2). – P. 149–153. *Особистий внесок – експериментальні дослідження та аналіз отриманих результатів.*

6. А.В. Пасенко, О.В. Новохатько, Т.Ф. Козловська, **С.В. Дігтяр**, О.О. Никифорова. Основні підходи до математичного моделювання біологічної продуктивності ціаней як сировинної бази біоконверсії // *Екологічна безпека*, Кременчук, 2016.– № 2 (22). – С. 118–127. *Особистий внесок – надання фактичного матеріалу для експериментальних досліджень.*

7. M. Yelizarov, **S. Digtiar**, S. Shlyk. The feasible methods for cyan bacteria harvesting from the water body surface. // *Вісник КрНУ*, 2016. – Випуск 6 (101). – С. 91–95. *Особистий внесок – аналіз властивостей біомаси ціанобактерій з плям «цвітіння».*

Тези доповідей на науково-практичних конференціях

8. **Дігтяр С.В.** Перспективи отримання клар-газу з біомаси синьозелених водоростей *Microcystis aeruginosa* / Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «*Біосферно-ноосферні ідеї В.І. Вернадського та еколого-економічні проблеми розвитку регіонів*» (14 – 16 вересня). – Кременчук, 2006. – С. 52. *Особистий внесок – літературний огляд питання розвитку технології біометаногенезу.*

9. **Дегтярь С.В.** «Цветение» водоёмов и пути рационального использования избыточной планктонной биомассы. / Тези IV міжнародної конференції студентів, магістрів та аспірантів «*Сучасні проблеми екології*». – Житомир, 2007. – С.183–185. *Особистий внесок – аналіз інформації щодо можливих шляхів подолання наслідків явища «цвітіння».*

10. Никифоров В.В., Козловская Т.Ф., **Дегтярь С.В.** Возможности интенсификации процессов образования биогаза из цианобактерий // Тези доповідей XII міжнародної науково-практичної конференції «*Біосферно-ноосферні ідеї В.І.Вернадського й еколого-економічні та гуманітарні проблеми розвитку регіонів*» – Кременчук, КДУ імені Михайла Остроградського, 2010. – С.75–76. *Особистий внесок – визначення оптимальних умов протікання процесу біометаногенезу на основі субстрату із біомаси ціанобактерій.*

11. **Дігтяр С.В.**, Зюман Б.В., Плакущий В.О. Проблема забруднення водосховищ на р. Дніпро та можливі шляхи її подолання. // Тези доповідей на міжвузівській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «*Новітні технології та інновації*» (НТІ – 2013), Кременчук, 2013, – С. 68–69. *Особистий внесок – підбір статистичних даних щодо екологічного стану дніпровських водосховищ та їх аналіз.*

12. M. Yelizarov, T. Kozlovs'ka, **S. Digtiar** Prospects for obtaining

valuable products from cyanobacteria biomass. // the International Conference «*Applied Biotechnology in Mining*», National Technical University «Dnipro Polytechnic» Dnipro, Ukraine, April 25–27, 2018. *Особистий внесок – аналіз властивостей біомаси ціанобактерій.*

13. K. Meixner, L. Kamarad, E. Binner, O. Tkachenko, **S. Digtiar**, V. Nykyforov, S. Shlyk Algae Blooms for Power supply. // *Bundesalgenstammtisch*, September 27-28, 2018 KIT, Karlsruher Institut für Technologie. – P. 56. *Особистий внесок – дослідження можливостей впровадження біотехнології отримання біогазу з органічної речовини гідробіонтів в умовах «цвітіння» водойм.*

Наукові параці, опубліковані в наукових журналах

14. Дігтяр С.В. Проблема «цвітіння» верхів'я Дніпродзержинського водосховища та шляхи її вирішення. // *Вісник проблем біології і медицини*, Полтава, 2006. – №4.– С.28–30. *Особистий внесок – аналітичний огляд екологічних аспектів проблеми «цвітіння» водойм та вибір оптимальних шляхів застосування надлишкової біомаси гідробіонтів.*

Патенти

15. Луговий А.В., Єлізаров О.І., Никифоров В.В., **Дігтяр С.В.** Спосіб отримання біогазу із синьозелених водоростей. Патент на корисну модель № 24106 від 25.06.2007. – К., Бюл. №9. *Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень.*

16. Никифоров В.В., Єлізаров М.О., Пасенко А.В., **Дігтяр С.В.**, Шлик С.В. Спосіб виробництва метану та добрива. Патент на корисну модель № 104743 від 10.02.2016. – К., Бюл. № 3. *Особистий внесок – дослідження особливостей протікання процесу метаногенезу залежно від субстрату.*

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ВИВЧЕНОСТІ БІОКОНВЕРСІЇ МАСОВИХ ФОРМ ГІДРОБІОНТІВ.....	10
1.1 «Цвітіння» дніпровських водосховищ як результат евтрофікації.....	12
1.2 Видовий склад, чисельність і біомаса водних організмів.....	24
1.3 Субстрат-мікробний комплекс гідролізу, ацидогенезу та метаногенезу.....	27
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, ПРЕДМЕТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	44
2.1 Об'єкт і предмет досліджень.....	44
2.2 Методи дослідження.....	48
РОЗДІЛ 3 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ МЕТОДУ ПЕРЕРОБКИ ОРГАНІЧНОЇ МАСИ ЦІАНОБАКТЕРІЙ.....	62
3.1 Біомаса ціанобактерій та інші біоенергетичні субстрати.....	62
3.2 Математичне моделювання біологічної продуктивності ціанобактерій.....	69
РОЗДІЛ 4 УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЙ ПЕРЕРОБКИ ЦІАНОБАКТЕРІЙ НА ЦІЛЬОВІ ПРОДУКТИ.....	85
4.1 Біотехнологія виробництва метану та біодобрива.....	85
4.2 Інші цільові продукти.....	107
РОЗДІЛ 5 КОМПЛЕКСНЕ НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ПЕРЕРОБКИ ГІДРОБІОНТІВ.....	111
5.1 Математична модель біометаногенезу.....	111
5.2 Експлуатація біометаногенної установки.....	116
5.3 Віртуальний комплекс технологічного процесу виробництва метану та добрива.....	118
5.4 Оцінювання техніко-економічної ефективності біоконверсії органічної маси ціанобактерій.....	121

ВИСНОВКИ.....	135
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	137
ДОДАТОК А Протоколи визначення гострої токсичної дії води на ракоподібних.....	160
ДОДАТОК Б Патенти на корисну модель.....	163
ДОДАТОК В Перелік нормативних документів, посилання на які містять ТУ на біогаз, отриманий з органічної речовини масових форм гідробіонтів.....	167
ДОДАТОК Г Перелік нормативних документів, посилання на які містять ТУ на дигестат як біологічне добриво.....	171
ДОДАТОК Д Перелік нормативних документів, посилання на які містять ТУ для експлуатації біометаногенної установки.....	173
ДОДАТОК Е Акти впровадження біотехнології переробки масових форм гідробіонтів у виробництво та навчально-методичний процес.....	176

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ISO – International Standards Organization

АПК – агропромисловий комплекс

БГУ – біогазова установка

БТ – біотехнологія

ДБН – Державні будівельні норми

ДСТУ – Державний стандарт України

ЕОМ – електронна обчислювальна машина

НПАОП – нормативно-правові акти з охорони праці

СЗВ – синьо-зелені водорості

СК – стаціонарний комплекс

ТУ – технічні умови

ФС – фотосистема

ЦПМ – цитоплазматична мембрана

ВСТУП

Актуальність теми. Останнім часом особливо гостро постала проблема збагачення води поживними речовинами унаслідок антропогенної діяльності, зокрема збільшення вмісту доступних форм Нітрогену, Фосфору та Карбону, що сприяє зростанню біопродукції водоростей та інших масових форм гідробіонтів. Це явище відоме як «культурна евтрофікація» [1]. Вибухоподібне утворення біомаси синьо-зелених водоростей (ціаней або ціанобактерій) у каскаді дніпровських водосховищ уже має сезонний характер, зумовлюючи дисбаланс у гідроекосистемах.

Одним з дієвих заходів протидії «цвітінню» Дніпра може бути вчасне вилучення значної частини надлишкової біомаси ціанобактерій з води з її подальшим ефективним використанням у господарстві. Розробка та впровадження технологічного процесу виробництва метану та добрива з їх біомаси є однією з перспективних природоподібних біотехнологій, здатних зменшити гостроту проблеми «цвітіння» водойм, мінімізувати екологічні ризики та забезпечити регіон додатковими енергоресурсами.

Пошук ефективних технологій з отримання біопалива здійснюється в межах програми диверсифікації джерел природного газу в Україні. Розв'язання проблем енергозабезпечення малих господарств дешевим біопаливом на основі органічної речовини, видобутої з альтернативних джерел, уможливить змогу оптимізацію технологічних процесів, залежно від сезону та доступної сировини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано відповідно до тематичного плану НДР кафедри біотехнологій та біоінженерії Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського під час фундаментальних досліджень і прикладних розробок із загального фонду держбюджету: «Фізико-хімічна біологія метаногенезу гідробіонтів» (№ ДР 0108U002170), «Екологічна біотехнологія виробництва метану із синьо-зелених водоростей» (№ ДР 0115U002528) і білатерального українсько-австрійського науково-дослідного проекту

«Способи переробки біомаси ціаней, що викликають «цвітіння» водойм» (№ДР 0117U003299).

Метою роботи є розробка нового технологічного процесу виробництва біогазу та органо-мінерального добрива на основі процесів біодеструкції та біоконверсії органічної маси водних організмів, що складається переважно із ціанобактерій. Для досягнення вказаної мети поставлено та розв'язано такі **завдання**:

- визначено видовий склад вихідного субстрату для біометаногенезу та його мікробіологічні характеристики, а також еколого-економічне значення ціанобактерій та перспективи ефективного використання їх біомаси;

- досліджено фізико-хімічні та біологічні аспекти процесу біометаногенезу й особливості біохімічних процесів виробництва біогазу, змодельовано процес біометаногенезу у лабораторних умовах, визначено хімічний склад зразків біогазу різного походження та проведено порівняльний аналіз їх фізичних властивостей;

- створено новий безвідходний технологічний процес, що забезпечує раціональне використання природних ресурсів (надлишкової біомаси гідробіонтів) і диверсифікує отримання біопалива II генерації;

- обґрунтовано наукові засади безпечної технології переробки біомаси ціаней на основі процесу біометаногенезу;

- виконано проект біометаногенної установки та розроблено технічні умови процесу переробки масових форм гідробіонтів з отриманням метану й органо-мінерального добрива;

- досліджено застосування різних субстратів для отримання біогазової метановмісної суміші, розроблено технічні умови щодо цільових продуктів біотехнології;

- розроблено математичну модель процесу біометаногенезу методом центрального композиційного рототабельного планування повного факторного експерименту ПФЕ-2 із зірковими точками та створено

віртуальний комплекс для контролю й автоматизації технологічного процесу виробництва метану та добрива з моно- і мультисубстратів;

– визначено техніко-економічну ефективність біоконверсії органічної маси ціанобактерій.

Об'єкт дослідження – природоохоронна біотехнологія переробки надлишкової біомаси ціанобактерій, що утворюється під час «цвітіння» води внаслідок її евтрофікації.

Предмет дослідження – ціанобактерії, біомаса яких є новим відновлювальним субстратом для виробництва цільових продуктів.

Методи дослідження – комплекс адекватних математичних, фізико-хімічних і біологічних методів з використанням сучасного обладнання та комп'ютерних технологій.

Наукова новизна отриманих результатів полягає у тому, що:

– уперше здійснено наукове обґрунтування способу отримання метану та добрива з масових форм гідробіонтів на прикладі ціанобактерій, що надає можливість застосовувати результати роботи для розв'язання проблеми економічно доцільного використання відновлюваного субстрату, а також під час подальшого розроблення природоподібних біотехнологій з використанням інших відновлюваних субстратів;

– уперше розроблено технічні умови процесу біометаногенезу та продукування органо-мінерального добрива на основі субстрату з біомаси ціаней, що дозволяє розв'язувати конкретні соціоекологічні проблеми, спричинені «цвітінням» водойм;

– уперше запропоновано практичні способи утилізації дигестату, у тому числі застосування його у сільському та лісовому господарстві;

– удосконалено процедуру та алгоритм розрахунку потужностей промислової установки для біометаногенезу.

Практичне значення одержаних результатів полягає у можливості використання результатів теоретичних і практичних досліджень дисертаційної роботи у біотехнологічному виробництві, природоохоронній

галузі й альтернативній енергетиці, сільському та лісовому господарстві, фармакології та косметології, а саме із застосуванням біомаси ціаней для отримання цінних біологічно активних речовин і біопалива II генерації. Упровадження результатів роботи надасть можливість знизити екологічний ризик негативного впливу явища «цвітіння» водойм на довкілля та здоров'я людини, а також зменшити антропогенний вплив на гідроекосистему Дніпра – основного джерела прісної води в Україні.

Наукові результати дисертації адаптовано до навчального процесу підготовки біотехнологів у ЗВО (КрНУ та ПДАА), у вигляді методичних вказівок щодо виконання лабораторних робіт з навчальних дисциплін «Біофізика», «Біоенергетика» та «Екологічна біотехнологія». Практична цінність роботи також підтверджується відповідними актами впровадження у природоохоронну діяльність об'єкта природно-заповідного фонду України – парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва у м. Кременчук «Ювілейний», а також на комплексних очисних спорудах КП «Кременчукводоканал». Результати досліджень захищено двома патентами на розробку корисних моделей та оприлюднено у науковій монографії.

Особистий внесок здобувача. Основні наукові ідеї, положення та результати теоретичних досліджень розроблено, сформульовано й отримано безпосередньо дисертантом. Теоретичні узагальнення, розробка математичних моделей, аналіз та інтерпретація отриманих даних, висновки роботи є авторськими. Експериментальні дослідження і промислові випробування опрацьовано за особистої участі здобувача.

Внесок дисертанта в роботу, виконану у співавторстві, полягає у обґрунтуванні напрямів досліджень, плануванні експериментів і обробленні результатів, фізичному моделюванні процесів, опрацюванні практичних рекомендацій щодо застосування результатів, розробленні положень, що виносяться на захист.

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати дисертаційного дослідження апробовано на багатьох міжнародних і

всеукраїнських науково-технічних конференціях, форумах і з'їздах: «Ідеї академіка В. І. Вернадського та проблеми сталого розвитку освіти і науки» (Кременчук, 2006–2018), «Сучасні проблеми екології» (Житомир, 2007), «Транзитна територія: екологія і транспорт» (Кременчук, КУЕІТУ, 2011), «Новые технологии НТ МИС 4Э» (Кременчук, 2012), «Проблеми екологічної безпеки» (Кременчук, 2015), «Фізичні процеси та поля технічних і біологічних об'єктів» (Кременчук, 2015–2016), «Екологія і природокористування в системі оптимізації відносин природи і суспільства» (Тернопіль, 2016), «Сталий розвиток – погляд у майбутнє» (Львів, 2017), «Sustainable development – state and prospects» (Lviv-Slavske, Ukraine, 2018) тощо.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 22 наукові праці, у тому числі одна монографія (у співавторстві), 11 статей у наукових фахових виданнях (вісім у співавторстві), 10 тез доповідей на конференціях (п'ять у співавторстві), а також захищено інтелектуальну власність за тематикою дисертації двома патентами на корисну модель (у співавторстві).

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ВИВЧЕНОСТІ БІОКОНВЕРСІЇ МАСОВИХ ФОРМ ГІДРОБІОНТІВ

Питанням, пов'язаним з використанням водних організмів за різним господарським призначенням, присвячено в різний час досить значну кількість робіт [2–15]. Але застосування масових форм гідробіонтів як джерела для виробництва біопалива II–III генерації, зокрема як субстрату для біотехнології метанового бродіння, є новою ідеєю [16–20].

Гідробіонти – організми, що мешкають у гідроекосистемах і пристосовані до життя у водному середовищі. Вони населяють водні біотопи з різним ступенем мінералізації, від прісноводних водойм до морів і солоних озер. За підрахунками у Світовому Океані існує близько 150 000 видів тварин і 10000 видів рослин, що складає відповідно 7 та 8 % від загальної кількості видів на Землі.

Протягом мільйонів років еволюції багато з них пристосувалися до існування у найрізноманітніших умовах. Залежно від способу пересування та перебування у відповідних шарах водного середовища, серед гідробіонтів виокремлюють такі основні екологічні групи: нектон, планктон і бентос.

Нектон (*nektos* – плаваючий) – великі тварини, що активно пересуваються і здатні долати великі відстані та сильні течії: риби, кальмари, ластоногі, кити. У прісних водоймах до нектону належать і земноводні, і безліч комах [21–23].

Планктон (*planktos* – блукаючий) – сукупність рослин (фітопланктон: діатомові, зелені та синьо-зелені водорості тощо) і дрібних тварин (зоопланктон: дрібні ракоподібні, крилоногі молюски, медузи, реброплавці, деякі черви), що мешкають на різній глибині, але не здатні до активних пересувань і до протистояння течіям. До складу планктону належать і личинки тварин, утворюючи особливу групу – нейстон. Це «тимчасове» населення верхнього шару води, що пасивно плаває, представлене різними

тваринами (десятиногі, вусоногі і веслоногі ракоподібні, голкошкірі, поліхети, риби, молюски та ін.) у личинковій стадії. Організми, що мешкають зверху поверхневої плівки, належать до епінейстону, знизу – гіпонеїстону. Личинки, дорослішаючи, переходять до нижчих шарів пелагеалі. Вище нейстону розташовується плейстон – це організми, у яких верхня частина тіла зростає над водою, а нижня – у воді (ряска – *Letna*, сифонофори та ін.). Планктон має важливе значення у трофічних зв'язках біосфери, будучи їжею для багатьох водних мешканців, у тому числі основним кормом для вусатих китів (*Myatcoceti*) [24–25].

Бентос (*benthos* – глибина) – гідробіонти дна. До складу бентосу належать переважно тварини, що ведуть прикріплений спосіб життя або повільно пересуваються на невеликі відстані (зообентос: форамініфери, деякі риби, губки, кишковопорожнинні, черви, плечоногі молюски, асцидії тощо), більш численними на мілководді, де до складу бентосу належать і рослини (фітобентос: діатомові, зелені, бурі, червоні водорості, бактерії). На глибині, де немає світла, фітобентос відсутній. Біля узбережжя зустрічаються квіткові рослини: камка (зостера), рупія. Найбагатші на фітобентос кам'яністі ділянки дна. В озерах зообентос менш багатий і різноманітний, ніж у морі. Його утворюють найпростіші, ракоподібні, черві, молюски, личинки комах та ін. Фітобентос озер утворений діатомеями, що вільно плавають, зеленими та синьо-зеленими водоростями; бурі та червоні водорості відсутні [26–28].

Укорінені прибережні рослини в озерах утворюють чітко виражені пояси, видовий склад і вигляд яких узгоджуються з умовами середовища в прикордонній зоні «суходіл–вода». У воді біля самого берега ростуть гідрофіти – напівзанурені у воду рослини (стрілиця, образки, очерет, рогіз, осоки). Вони змінюються гідатофітами – рослинами, зануреними у воду, але з листям, що плаває (лотос, ряски, глечики, водяний горіх) і – далі – повністю зануреними (рдесник, елодея, хара). До гідатофітів належать і рослини, що плавають на поверхні (ряска).

1.1 «Цвітіння» дніпровських водосховищ як результат евтрофікації

До масових форм гідробіонтів належать види, збільшення чисельності яких за певних умов набуває у водоймах вибухоподібного характеру, і їх біомаса починає суттєво переважати таку, порівняно з видами-конкурентами. Оригінальну класифікацію гідробіонтів наведено на схемі (рис. 1.1).

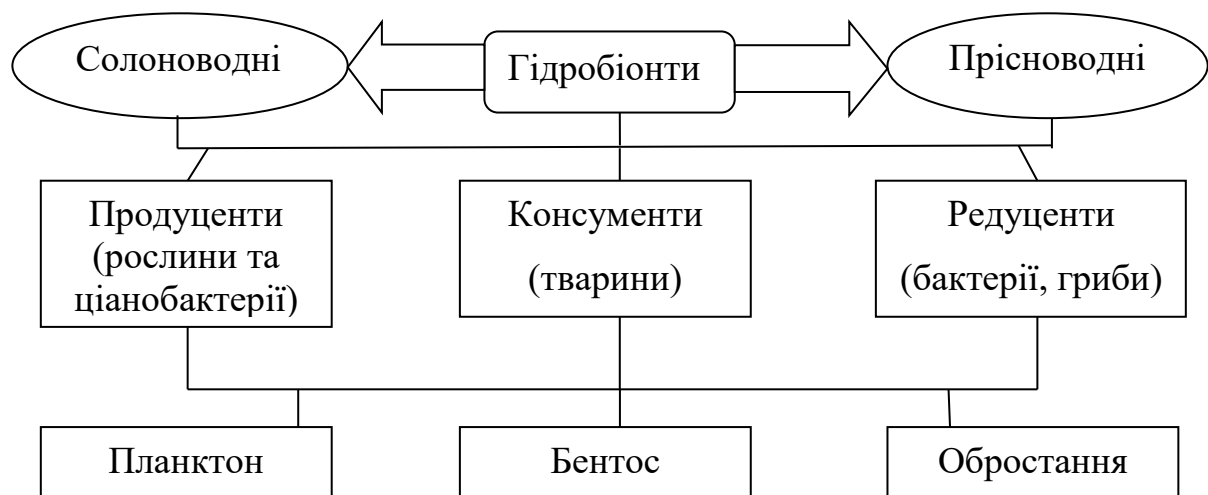


Рис. 1.1 – Схема класифікації гідробіонтів за екологічними групами

Біоту зарегульованих річок слід розглядати в трьох основних аспектах: як природний ресурс, як індикатор екологічного стану і як чинник формування якості води. Згідно з даними сайту Dnieper.org, фітобентос Дніпра та його водосховищ характеризується значною різноманітністю як за кількістю представників видів, так і за показниками їх кількісного розвитку. У складі водоростей, що розвиваються на межі поділу вода/донні відкладення, залежно від водосховища і сезону, виявляється різна кількість їх видів і внутрішньовидових таксонів: у Київському – 181, у Кременчуцькому та Кам'янському – 128, у Каховському – 88. Разові запаси перифітона вельми істотні: у Кременчуцькому водосховищі влітку вони досягають близько 5000 т у сухій речовині [29].

Пристосувавшись до певних умов існування, кожен вид досить чутливо реагує на зміну чинників навколишнього середовища. Кількісне та якісне

відхилення фізичних і біохімічних показників у той чи інший бік може по-різному сприйматися мешканцями водної екосистеми. Суттєвим чинником, що спричиняє дисбаланс в біогідроценозі, є евтрофікація – штучне надудобрення вод унаслідок забруднення сільськогосподарськими та комунальними стоками, яке призводить до бурхливого розмноження водоростей і зниження вмісту розчиненого Оксигену у глибинних шарах через розкладання мертвої органічної речовини, що утворюється зі зростаючою седиментацією [30].

Евтрофікування поверхневих вод може бути результатом як антропогенних впливів, так і сукцесії біогідроценозів. Основними хімічними елементами, що сприяють евтрофікації, є Фосфор і Нітроген, проте наявність інших має величезне значення в процесах, що протікають у водоймах. Тому доцільно розглянути гідрохімічний і гідробіологічний режими, від балансу між якими залежить якість поверхневих вод дніпровських водосховищ.

Формування гідрохімічного, гідробіологічного та гідрологічного режимів Дніпра можна розділити на два періоди: 1) річка Дніпро до створення водосховищ; 2) спорудження каскаду водосховищ як специфічних водних об'єктів, що виокремлюються за комплексом гідробіологічних, гідрохімічних і гідрологічних характеристик від річок, з яких вони утворюються.

Слід зазначити, що водосховища на Дніпрі створювалися протягом 64 років, починаючи з 1931 р. (спорудження греблі Дніпрогесу ім. В. І. Леніна), у тому числі 1976 г. (заповнення Канівського водосховища) і завершуючи 1990–1995 рр. перекриттям Дніпровсько-Бузького лиману морезахисною греблею. Будівництво кожного з дніпровських водосховищ, які відносяться згідно з прийнятою класифікацією Фортунатова М. А. [31] до гігантських, істотно впливало на формування гідробіологічного, гідрохімічного та гідрологічного режимів не тільки на акваторії його утворення, а й на функціонування розташованих нижче за течією ділянок річки і створених раніше водосховищ.

Досить актуальною проблемою для багатьох водойм на сьогодні є надмірна евтрофікація гідроєкосистем, зокрема для каскаду із шести водосховищ, побудованих на р. Дніпро. Причиною цього явища є надлишок поживних речовин, переважно фосфатів, що потрапляють у воду з побутовими стоками чи змиваються під час опадів із сільськогосподарських угідь і спричиняють вибухоподібне розмноження ціанобактерій та водоростей. На стадії свого розкладання вони поглинають Оксиген з води, нестача якого у водоймі викликає масову загибель риби та інших гідробіонтів [32–33].

Проблема евтрофікації досить гостро постала для 54 % прісноводних водойм в Азії, 53 % – у Європі, 48 % – у Північній Америці; 41 % – у Південній Америці, 28 % – в Африці. Для штучних водойм – водосховищ, що не мають повноцінних природних механізмів самоочищення, проблема евтрофікації є ще гострішою, ніж у випадку природних озер [34].

Водосховища, утворені унаслідок будівництва гідроелектростанцій, займають тепер у світі площу понад 600 000 км² (що приблизно дорівнює площі України). 2005 року у світі було понад вісім тисяч великих гідроелектростанцій (з висотою греблі понад 15 м), що забезпечували 19 % світового виробництва електроенергії [35]. Потреби людства в енергії, що постійно зростають, та прагнення перейти на використання відновлюваних джерел енергії зумовлюють будівництво нових гідроелектростанцій і спорудження нових і нових водосховищ.

Звичайно на берегах таких водосховищ ведеться інтенсивна аграрна діяльність (через доступ до води для зрошування), зводяться великі промислові об'єкти, що потребують для своєї роботи багато води і/або електричної енергії (такі, як атомні станції, хімічні, металургійні підприємства тощо), проживає значна кількість мешканців.

У ХХ ст. в Україні створення каскаду дніпровських водосховищ перетворило Дніпро – одну з найбільших річок Європи і головну водну артерію України – на систему слабопроточних штучних озер, на берегах яких

проживає велика кількість (близько семи млн.) населення, ведеться інтенсивне аграрне та промислове виробництво. Надмірне надходження поживних речовин разом зі стоками з промислових об'єктів, водоочисних споруд населених пунктів, а також стікання снігових і дощових вод з полів, де вони вбирають у себе добрива, є головною причиною евтрофікації дніпровських водосховищ і щорічного «цвітіння» води в них у літній період.

Існують і деякі додаткові чинники, що сприяють евтрофікації дніпровських водосховищ. Так, значна водна ерозія штучно утворених і належно не укріплених берегів спричиняє, по-перше, пряме потрапляння поживних речовин у воду, а по-друге, призводить до зміління і так досить мілких водосховищ. Унаслідок цього в літню спеку водосховища починають прогріватися ще дужче, що стимулює розмноження ціанобактерій.

Домінування ціаней у біогідроценозах Дніпра має виключно негативні наслідки. Упродовж періоду свого розмноження й розкладання, що триває із середини червня до кінця вересня, ціанобактерії значно погіршують якість дніпровської води. Це надзвичайно ускладнює її очищування на водоканалах прибережних міст до стандартів питної води. Також вони поглинають Оксиген з води, що регулярно спричиняє замори риби. Загибла риба спливає на поверхню води і, розкладаючись, надає повітрю над Дніпром специфічного неприємного запаху.

У роботі [36], де автори визначали склад повітря над Рибінським водосховищем під час «цвітіння» води, було виявлено метан. Останній, як відомо, утворюється в процесі анаеробної ферментації. Отже, можна зробити висновок, що нестача Оксигену у воді під час розкладання ціанобактерій є настільки значною, що в поверхневому шарі води виникають умови для анаеробного гниття, що й згенерувало нашу ідею використовувати біомасу ціанобактерій як субстрат для біометаногенезу.

Постійні піднімання та опускання рівня води на нижніх б'єфах гідроелектростанцій призводять до того, що насичена ціанобактеріями дніпровська вода заходить у дніпровські плавні, рукави і стариці, регулярно

затоплюючи їх береги. Це призвело до замулення і фактичної втрати багатьох дніпровських пляжів – традиційних місць відпочинку та купання для населення.

Щороку в літній період дніпровська вода перетворюється на джерело небезпечного мікробного забруднення [37–38]. У такій ситуації, коли неможна усунути надмірне надходження поживних речовин у дніпровські водосховища, лише щорічне вилучення основної маси ціанобактерій разом з поживними речовинами, що вони увібрали, може поліпшити незадовільний екологічний стан Дніпра.

Як показують дані [39], цю біомасу можна безпосередньо використовувати як ефективне органо-мінеральне добриво. Проте наші попередні дослідження [40, 41] довели, що піддавання біомаси ціанобактерій анаеробній ферментації дозволяє одержати біогазову суміш з високим вмістом метану, а залишки біомаси можуть бути успішно використані як добриво в аграрному виробництві та лісогосподарській галузі, оскільки дигестат після ферментації втрачає токсичність, притаманну ціанеям.

Отже, регулярне вилучення ціанобактерій з дніпровських водосховищ у літній період приносить не лише екологічну, а й економічну (енергетичну й аграрну) користь. Проведені спостереження за «цвітінням» води у Кременчуцькому водосховищі показують, що маса ціанобактерій вільно переміщується по всій поверхні водойми, дрейфуючи за напрямом вітрів і хвиль (рис. 1.2).

У перші дні періоду тихої погоди вздовж берегів, до яких перед цим інтенсивно дули вітри, принесло основну частину ціанобактерій з водойми, які спливають угору, формуючи в такий спосіб дуже насичений ціанеями поверхневий шар води [42].

Така періодична природна локалізація біомаси ціанобактерій у певних місцях водойми дозволяє запропонувати різні способи механічного вилучення всього насиченого ними поверхневого шару води як ефективний метод очищення водойми від ціанобактерій.



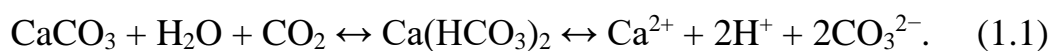
Рис. 1.2 – Вигляд з космосу на частину Кременчуцького та Кам'янського водосховищ і греблю Кременчуцької ГЕС між ними

Гідрохімічний режим. По всій протяжності річки вода Дніпра значно відрізняється граничними значеннями хімічних інгредієнтів, що зумовлено рядом чинників. Важливе значення має відмінність складу вод основних джерел живлення річки – талих вод у період весняної повені, меншою мірою – літніх і осінніх дощів, ґрунтових вод тощо. Суттєво впливає розташування басейну річки у різних фізико-географічних зонах. Відмінності складу вод на різних ділянках річки пов'язані також із сезоном року, хімічним складом донних відкладень (по всьому руслу річки підзолисті ґрунти змінюються чорноземами, а потім – каштановими ґрунтами; зустрічаються солонці й солончаки, крейдові утворення та інше), різною якістю водних мас, що впадають у притоки, впливом території водозбору і розташованих на ній ландшафтів, міст та інших населених пунктів.

Дніпро поділяється на три частини: 1) верхня течія від витoku до Києва (1320 км), 2) середня – від Києва до Запоріжжя (555 км) і 3) нижня – від Запоріжжя до гирла (325 км). Живлення річки Дніпро змішане. Основний стік формується вище м. Київ. Головне джерело живлення – снігові води, які у верхній течії складають близько 50 %, підземні – 27 % і дощові – 23 %. Нижче значення снігових вод збільшується, а дощових різко зменшується. Середня витрата води в м. Київ – 7000 м³/с, найбільша – 25 000 м³/с,

найменша – 200 ³/с. Середній річний стік у гирлі – 53 км³, у багатоводний рік – 73 км³, маловодний – 24 км³, середня витрата – 1670 м³/с. За період весняного водопілля проходить 60–70 %, а іноді і 80 % річного стоку, влітку – низька межень, восени (з випаданням дощів) і взимку (з відлигою) – повені. Замерзає Дніпро в грудні. Середні терміни скресання криги: для верхнього Дніпра – початок квітня, для середнього – середина березня, для нижнього – початок березня [43].

Для прісних дніпровських вод карбонатно-кальцієва система – найбільш важливий чинник, що формує хімічний склад води. Процеси розчинення або накопичення карбонатних порід у водовмісних товщах залежать від стану рівноваги між елементами цієї системи та характеризуються реакцією:



Основні ознаки карбонатно-кальцієвої системи природної лісостепової зони визначаються зміною позитивного балансу вологи негативним, континентальним характером клімату, різноманітністю рельєфу з глибокими ерозійними врізами, великими ухилами, чорноземними, багатими гумусом і мінеральними солями ґрунтами, інтенсивним поверхневим і підземним стоком зі строкатою мінералізацією і хімічним складом води, кальцієвим або содовим класом водної міграції, незначною промитістю ґрунтів і порід зони аерації, інтенсивністю ерозійних процесів, господарською діяльністю та ін. У поверхневих річкових водах рівновагу карбонатно-кальцієвої системи зрушено вліво, дефіцит CO₂, порівняно з рівноважною у середньому змінюється від 5,72 до 22,00 мг/дм³, води не агресивні.

Нестача вуглекислоти збільшується у східному напрямку. Основні причини цього явища зумовлені особливостями ландшафту: поглинання вуглекислоти в результаті інтенсивного фотосинтезу (середній діапазон 0,01–15 мг/дм³); збідніння вод органічними речовинами (середній діапазон 7–10 мг О/дм³); насиченість Кальцієм, а на Лівобережжі України – і Натрієм. Максимальний зсув рівноваги на терасах лівобережжя Дніпра, викликаний

майже повною відсутністю в водах H_2CO_3 (2,2 мг/дм³) унаслідок її нейтралізації іонами Натрію і Кальцію, надлишок яких пов'язаний з інтенсивним содовим засоленням водозбірних площ [44].

Для річкових вод лісостепової зони характерним є збільшення дефіциту CaSO_4 на північний схід. Максимального значення – 1733 мг/дм³ – дефіцит сягає на лівобережжі Дніпра. У водах дочетвертинних, як і у водах четвертинних відкладень спостерігається зрушення рівноваги зі збільшенням дефіциту CaSO_4 , так, у правобережному Придніпров'ї максимальний дефіцит CaSO_4 – 1892 мг/дм³ [45].

Для річкових вод лісостепової зони збільшення схильності до відкладення CaCO_3 спостерігається із заходу на схід із 13 до 50 мг/дм³. У степовій зоні спостерігається максимальний надлишок CaCO_3 у водах четвертинних відкладень, на лівобережжі Дніпра значення абсолютних величин якого у водах менше, ніж на правобережжі. Лівобережжя Дніпра степової частини України багатше надлишком у водах дочетвертинних відкладень CaCO_3 , ніж правобережжя [46].

У межах України усереднений хімічний склад розчинених у річкових водах мінеральних речовин, що формуються під впливом антропогенних чинників, має характерний хлоридно-сульфатний натрієво-магнієвий склад з мінералізацією 105 мг/дм³.

Кременчуцьке водосховище має протяжність 165 км, площу водного дзеркала – 2252 км², об'єм – 13,5 км³, середню ширину – 15 км, найбільшу – 28 км, середню глибину – 6 м, максимальну – 21 м. Наповнення водосховища відбувається під час паводків на р. Дніпро. У літній період рівень води стабільний. Велике зниження рівня спостерігається в осінній і зимовий періоди.

Хімічний склад водосховища переважно залежить від вод верхнього і середнього Дніпра. До того ж, унаслідок акумуляції весняної повені сезонні коливання йонно-сольового складу води тут відбуваються у більш вузьких межах, ніж у річці. Водночас спостерігається нерівномірна зміна

мінералізації по акваторії, яка за даними авторів [47], коливається навесні в межах 120–260 мг/дм³ у верхній частині водосховища і 130–140 м у пригреблевій його частині.

У літньо-осінній період мінералізація води у верхній частині водосховища сягає 250–310 мг/дм³, у пригреблевій частині унаслідок доповнення водами повені вона зменшується до 143–235 мг/дм³, а взимку досягає 250–390 мг/дм³. У верхній частині водосховища мінералізація змінюється в річному циклі в таких самих межах, як і в річці; у пригреблевій частині вона дещо зменшується. Зміна складу води зі збільшенням глибини зазвичай не спостерігається, тільки в період інтенсивного «цвітіння» під час зсуву карбонатної рівноваги і осаджування CaCO₃ відбувається незначне зниження мінералізації у верхніх шарах води. У пригреблевій частині водосховища спостерігається стратифікація мінералізації води унаслідок неповного перемішування паводкових вод з рештою маси води [48].

Вплив приток на склад води у водосховищі відносно незначний. Серед приток найзначніше впливає стік р. Сула, яка вливається у Сульську затоку і позначається на збільшенні мінералізації та загальної жорсткості. Наприклад, у лютому 1994 р. мінералізація води в Сульській затоці досягала 800 мг/дм³, а 1995 р. – 812 мг/дм³ [49].

Екстремальні величини концентрації йонів сольового складу змінюються зі зміною величин загальної мінералізації води. Співвідношення головних йонів води майже постійне. Вода у водосховищі так само, як і в річці, належить до гідрокарбонатного класу групи Кальцію другого типу (HCO₃⁻ 40,6 % екв., Ca²⁺ – 3,67 % екв.). Незначне коливання у співвідношенні Ca²⁺ і Mg²⁺ спостерігається на різних ділянках акваторії під впливом припливів. Наприклад, у Сульській затоці незначною мірою збільшується відносний вміст Mg²⁺ і HCO₃⁻, а Ca²⁺ зменшується.

У загальному вигляді залежність мінералізації від вмісту домінуючих йонів описується рівняннями карбонатності:

$$\sum_{120-400} i = 1,46(HCO_3^-) + 20, \quad (1.2)$$

$$\sum_{120-400} i = 5,9(Ca^{2+}) - 20 \quad (1.3)$$

Значно більшою мірою зарегульованість стоку позначається на зміні газового режиму водосховища і на концентрації органічних речовин. На розподіл розчиненого Оксигену, двооксиду вуглецю і рівня рН у водосховищі значно впливає масовий розвиток і відмирання СЗВ. У період «цвітіння» у верхньому шарі води (до глибини 1 м) насичення Оксигеном досягає 100 %, водночас у придонному шарі воно не більше 50–60 %, а в придонних шарах пригреблевої частини – 10–20 %. У період масового відмирання у наслідок накопичення продуктів розпаду, що легко окислюються, концентрація Оксигену у воді зменшується до повного зникнення.

Як результат виникають умови для замору і масової загибелі риби (липень–серпень 2001–2004 і 2013–2016 років). Дефіцит Оксигену, який раніше спостерігався в річці дуже рідко, після зарегулювання стоку набуває величезних масштабів на значній території водосховища. Кислотність води в період «цвітіння» у верхньому шарі збільшується до 9,6. Двооксид вуглецю влітку зазвичай у поверхневих шарах відсутній, водночас у придонних шарах води на глибині 15–20 м його концентрація досягає 19,0 мг/дм³ [50, 51].

Високий ступінь накопичення у водосховищах сполук Нітрогену та Фосфору суттєво впливає на інтенсивний розвиток планктонних СЗВ. Після їх відмирання на поверхні водойми утворюються величезні скупчення біогенних речовин і бактеріальних агломерацій з характерним запахом скатолу.

Останній є продуктом розкладання амінокислоти триптофану, що міститься у водоростевій біомасі, причому додатково утворюються індол зі специфічним запахом і амінокислота серин, яка під дією сульфатредуючих ферментів розкладається до відповідних толових етерів з неприємним запахом метил-меркаптану, що й надає природним водам запаху гниття. За

результатами відбору проб протягом 2015–2016 років визначено концентрації органічних речовин різних продуктів обміну ціанобактерій: спирти, альдегіди, аміносполуки, продукти розпаду білкових комплексів (табл. 1.1), що призводять до різкого погіршення якості води.

Таблиця 1.1 – Вміст аміносполук природно-антропогенного походження у водах Кременчуцького та Кам'янського водосховищ [48]

№ пор .	Інгредієнт	Проби та концентрація сполук, мг/дм ³				
		1	2	3	4	5
Амінофеноли (гідроксіаніліни)						
1	о-Амінофенол	0,00025	0,00018	0,00028	0,00012	0,00008
2	м-Амінофенол	0,00023	0,00016	0,00016	0,00014	0,00012
3	п-Амінофенол	0,00018	0,00025	0,00012	0,00022	0,00007
Аліфатичні аміни						
4	Аміламін	0,00032	0,00026	0,00019	0,00025	0,00028
5	н-Бутиламін	0,00024	0,00022	0,00025	0,00031	—
6	Диаміламін	0,00038	0,00036	0,00029	0,00031	0,00025
7	Дибутиламін	—	0,00012	—	0,00014	—
8	Диетилнітрозамін	0,00027	0,00027	0,00009	0,00019	0,00014
9	Диетилетаноламін	0,00025	0,00032	0,00007	0,00025	0,00016
10	Метиламін	0,00045	0,00042	0,00048	0,00034	0,00042
11	н-Пропіламін	0,00032	0,00026	0,00035	0,00038	0,00031
12	Етиламін	0,00019	0,00024	0,00021	0,00014	0,00012
13	Етилетаноламін	0,00012	0,00005	0,00005	0,00015	0,00015
14	Трибутиламін	0,00005	0,00005	0,00005	0,00005	0,00005
15	Етилендіамін	0,000025	0,000025	0,000025	0,000025	0,000025
Ароматичні аміни						
16	м-Толуїлендіамін	0,00012	0,00014	0,00016	0,00012	0,00012
17	о-Толуїдин	0,00005	0,00012	0,00021	0,00018	0,00014
18	Анілін	0,0009	0,0008	0,0005	0,00025	0,00014
19	β-Нафтиламін	0,00025	—	0,00014	0,00022	—
Аміноспирти						
20	Етаноламін	0,00025	0,00028	0,00026	0,00035	0,00036
21	Диетаноламін	0,00022	0,00026	0,00026	0,00042	0,00024
22	Триетаноламін	0,00025	0,00025	0,00018	0,00028	0,00026
23	Холін	0,00035	0,00042	0,00052	0,00058	0,00025
Амінокислоти						
24	Амінооцтова кислота	0,00025	0,00026	0,00026	0,00021	0,00022
25	2-Аміно-3- метилпентанова кислота	0,000025	0,000018	0,000022	0,000014	0,000012

Для Кременчуцького водосховища «цвітіння» є одним з головних чинників, що визначають екологічну ситуацію взагалі та формують

екологічну небезпеку зокрема. Особливості морфометричних, гідравлічних, гідрологічних параметрів Кременчуцького водосховища, його розташування всередині каскаду, а також специфіка природних характеристик і господарського використання водозбірної території зумовили високу схильність до «цвітіння» [52].

У цілому, формування гідрохімічного режиму незарегульованих ділянок Дніпра та його водосховищ як найважливішої передумови якості води та біопродуктивності – процес складний і залежить від комплексу природних й антропогенних чинників. Однак головною є та обставина, що у водосховищі, порівняно з річкою, змінений тип кругообігу речовин: у річці – транзитний стік, у водосховищі – майже замкнутий кругообіг. Унаслідок цього виникли суттєві зміни гідрологічних і хімічних показників водних мас, а також гідробіологічного режиму, глибокі порушення функціонування водних екосистем і створеної в річці екологічної рівноваги.

Найбільш небезпечним наслідком негативного впливу на вкрай чутливі водні екосистеми є антропогенна евтрофікація (підвищення рівня трофності). Самі по собі невеликі кількості антропогенних забруднюючих речовин не завжди призводить до погіршення стану водойм, оскільки їх властивість до самоочищення здатна нейтралізувати цю кількість органічних сполук унаслідок мінералізації за допомогою редуцентів. Проте масове антропогенне забруднення водойм протягом тривалого періоду завжди призводить до зміни їх трофічного стану. Унаслідок антропогенної евтрофікації, надлишкового надходження у водойми біогенних речовин первинна продукція за допомогою планктонних форм починає превалювати над деструкцією алохтонної органічної речовини [53].

Аеробні процеси змінюються на анаеробні, що погіршує гігієнічні показники якості води та негативно впливає на санітарний і рекреаційний стан водойм. Головним чинником зростання евтрофікації водойми є вихід сольового фосфору із донних відкладень у біопродукційні шари води (епілімніон), а також прибуток Фосфору за рахунок поверхневого стоку і

стічних вод. До того ж, використовуючи низку фізіологічних особливостей (фіксацію атмосферного Нітрогену з атмосферного повітря і сольового Нітрогену в різних формах, що потрапляє до водойм, фотосинтез і пряме споживання вуглецю), планктонні фотосинтезувальні форми отримують можливість домінувати над іншими формами мікрофлори, беруть участь у процесах самоочищення водойм.

Додаткове забруднення внаслідок рекреації за відсутності достатньо розвиненої інфраструктури збільшує антропогенне навантаження на водойму, що призводить до підвищення рівня трофності, а на найближчу перспективу – до мезо-, полі- і гіпертрофних рівнів.

Гідробіологічний режим. Під час «цвітіння» поверхня води нерідко вкрита слизькою на дотик, зеленого кольору тванню. Це зелені водорості, переважно види роду *Spirogyra* Link, чисельність яких може перевищувати 1 млн клітин на дм^3 . Часто зустрічаються також види *Zygnema* C. Agardh, *Mougeotia* C. Agardh, *Vaucheria* A.P. de Candolle. Біля берегів річок у воді, а часто і на березі, можна побачити водорості роду *Cladophora* Kütz., їх неважко впізнати за наявністю розгалужених ниток.

1.2 Видовий склад, чисельність і біомаса водних організмів

Основними збудниками «цвітіння» є представники трьох родів синьо-зелених водоростей – *Microcystis* Kützing (переважно *Microcystis aeruginosa* Kützing) (рис. 1.3), *Aphanizomenon* Kützing (здебільшого *Aphanizomenon flos-aquae* Linnaeus Ralfs ex Bornet & Flahault), *Anabaena* Bory de Saint-Vincent ex Bornet & Flahault (переважно *Anabaena flos-aquae* Brebisson ex Bornet & Flahault). У період «цвітіння» води чисельність і біомаса водоростей істотно збільшується: на окремих ділянках водосховища їх біомаса може сягати 70–100 г/м^3 , а в місцях вітрових скупчень водоростей і плямах «цвітіння» – десятків кілограмів у 1 м^3 .

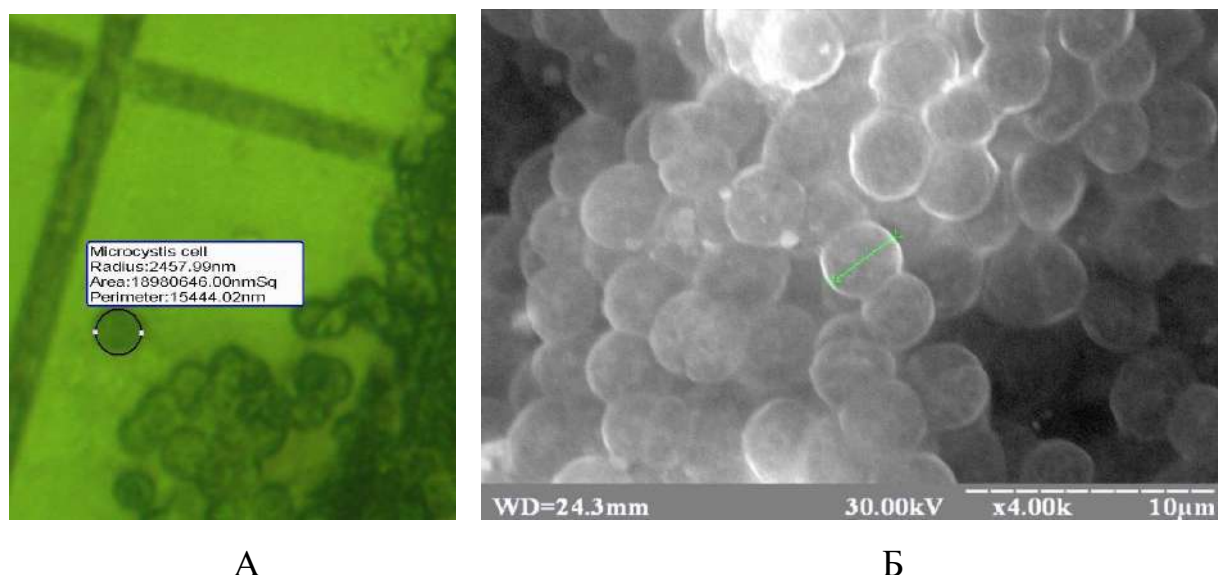


Рис. 1.3 – Домінуючий у Кременчуцькому водосховищі збудник «цвітіння» води *Microcystis aeruginosa*: А – світлова мікрофотографія, 600^x, Б – електронне скановане зображення поверхні колонії, 4000^x

Скадовський С. М., Федоровим В. Д. та Максимовим В. Н. [54–56] виявили та довели, що під час лагфази зростання кількості біомаси СЗВ несуттєво знижується, а відсоток вмісту живих клітин збільшується. Під час мікроскопування культури, що знаходиться на початку лагфази зростання, спостерігаються скупчення деструктурованих, автолізувальних клітинних злиплених залишків, що втратили контури і нагадують виноградні грона, тобто в лагфазу зростання автолізуються тільки мертві клітини, які далі резорбують, що негайно викликає зменшення біомаси і збільшення відсоткового вмісту живих клітин у культурах водоростей. До того ж, на тлі зростання біомаси водоростей відсоток живих клітин зменшується за параболічною залежністю: у кожену генерацію розмноження в культурах СЗВ відмирає приблизно постійний відсоток клітин.

Окрім макроскопічних, видимих неозброєним оком водоростей, у всіх водоймах мешкає безліч мікроскопічних видів водоростей. Вони є автотрофними продуцентами первинної органічної речовини в біогідроценозах. Багато з них виростають на дні, утворюючи фітобентос, інші занурені в товщі води і можуть пасивно або активно в ній пересуватися (фітопланктон), деякі утворюють обростання вищої водної рослинності

(фітоперифітон). Забруднюючі речовини призводять до кількісних і якісних змін у складі екосистем: одні види зникають, інші розвиваються з високим ступенем їх продукування. Видовий склад реагує на досить слабе забруднення води, яке не завжди визначається хімічними методами.

З підвищенням рівня трофності відбувається збагачення складу водної флори β -мезосапробними видами. У природних рослинних угрупованнях домінують так звані Елодеїди: *Elodea canadensis* Michx., *Potamogeton amplifolius* Tuck., *Ceratophyllum demersum* Linnaeus. У високоевтрофних водоймах існує багато рослин з плаваючим листям. Загальна кількість видів зменшується до 20–30 [57].

У зоопланктоні водосховищ переважають *Infusoria*, *Rotatoria*, *Arthropoda* і личинки молюсків (*Dreissena* Beneden та ін.). У планктоні Кременчуцького водосховища виявлено 75 видів *Infusoria*, а також 79 видів багатоклітинних безхребетних, у тому числі *Rotatoria* складають 47 %, *Arthropoda* – 53 % (*Copepoda* – 17 %, *Cladocera* – 36 %).

Фауна заростей вищої водної рослинності представлена як мікроскопічними формами (*Nematoda*, *Rotatoria* й ін.), так і макроскопічними організмами (*Annelida*, *Mollusca*, *Arthropoda* та ін.). За даними Зімбалевої Л. Н. [58], цих організмів у дніпровських водосховищах налічується 360 видів. Іхтіолог Новіцький Р. О. визначив, що за останні 10–15 років з'явилися види риб, які раніше не реєструвалися, їх кількість постійно збільшується [59].

На сьогодні день у басейні Дніпра виявлено 61 вид риб, серед яких є аборигенні та інтродуковані види: *Eudontomyzon mariae* Berg, *Acipenser gueldenstaedti* J.F. Brandt & Ratzenburg, *Acipenser ruthenus* Linnaeus, *Clupeonella cultriventris* Nordmann, *Abramis brama* Linnaeus, *Alburnus alburnus* Linnaeus, *Ballerus ballerus* Linnaeus, *Barbus borysthenicus* Dybowski, *Blicca bjoerkna* Linnaeus, *Carassius carassius* Linnaeus, *Chondrostoma nasus* Linnaeus, *Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, *Cyprinus carpio* Linnaeus, *Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, *Rhodeus amarus* Bloch, *Tinca tinca*

Cuvier, *Esox lucius* Linnaeus, *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, *Perca fluviatilis* Linnaeus, *Sanderlucio perca* Linnaeus. На межі зникнення виявились *Acipenser gueldenstaedtii* J.F. Brandt & Ratzenburg, *Acipenser stellatus* Pallas, *Acipenser sturio* Guldenstadt, *Anguilla anguilla* Linnaeus.

Отже, з порушенням екологічної рівноваги в біогідроценозах під впливом антропогенних чинників істотно змінюються процеси авторегуляції їх формування, найбільш збалансовані в урівноважених наземних фітоценозах, а це впливає на рівень накопичення біологічно активних речовин у водному середовищі, що позначається на формуванні якості води та функціональній активності гідробіонтів [60].

1.3 Субстрат-мікробний комплекс гідролізу, ацидогенезу та метаногенезу

Процес утворення метану внаслідок біодеструкції органічного субстрату по суті є комплексом біохімічних реакцій, що відбуваються у порівняно вузькому діапазоні фізичних і хімічних параметрів (температури, тиску, інтервалу концентрацій, активності водневих йонів тощо). Швидкість протікання біохімічних реакцій залежить від концентрацій молекул речовин, що реагують (субстрату), та констант швидкостей, характерних для даного типу реакцій. Наявність біологічних каталізаторів – ферментів (ензимів) – може суттєво підвищити (у 10^5 – 10^{14} разів) цю швидкість.

Доведено, що біоконверсія органічних речовин під час метаногенезу здійснюється як багатоступінчатий процес, у якому вуглецеві зв'язки поступово руйнуються під дією ферментів численних груп мікроорганізмів та їх комплексів [61]. За сучасним переконанням, анаеробне перетворення майже будь-якої складної органічної речовини на біогаз проходить щонайменше чотири послідовні стадії (рис. 1.4):

– стадія гідролізу складних біополімерних молекул (протеїнів, ліпідів, полісахаридів і ін.) на простіші мономери: амінокислоти, моносахариди, вищі жирні кислоти та ін.;

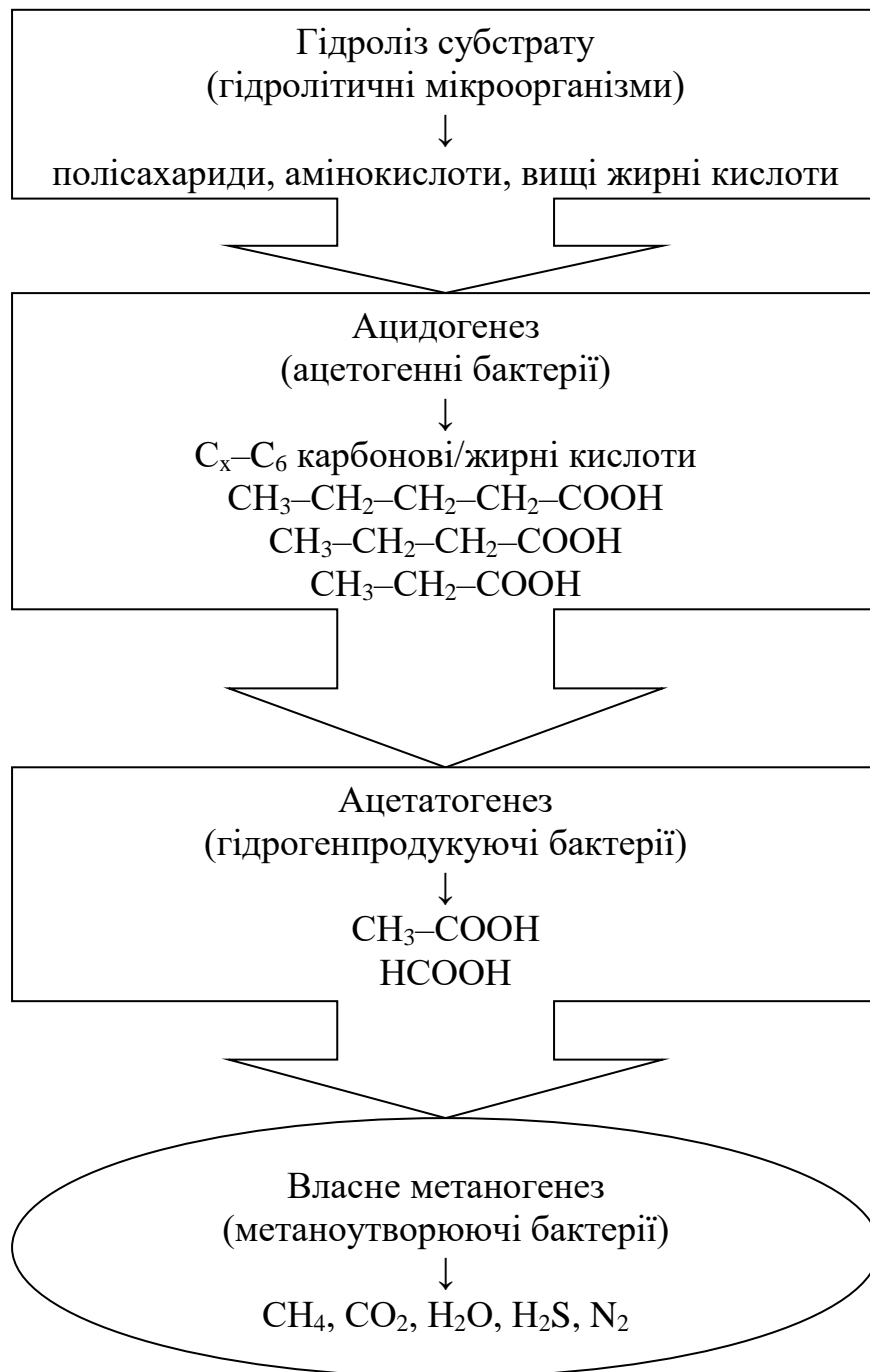


Рис. 1.4 – Етапи метаногенезу та проміжні продукти

– стадія гідролізу складних біополімерних молекул (протеїнів, ліпідів, полісахаридів і ін.) на простіші мономери: амінокислоти, моносахариди, вищі жирні кислоти та ін.;

– стадія ферментації (бродиння) мономерів, що утворилися, до ще простіших речовин – нижчих кислот і спиртів, при цьому утворюються карбон (IV) оксид і Гідроген;

– ацетогенна стадія, на якій утворюються безпосередні попередники метану: ацетат, Гідроген, карбон (IV) оксид;

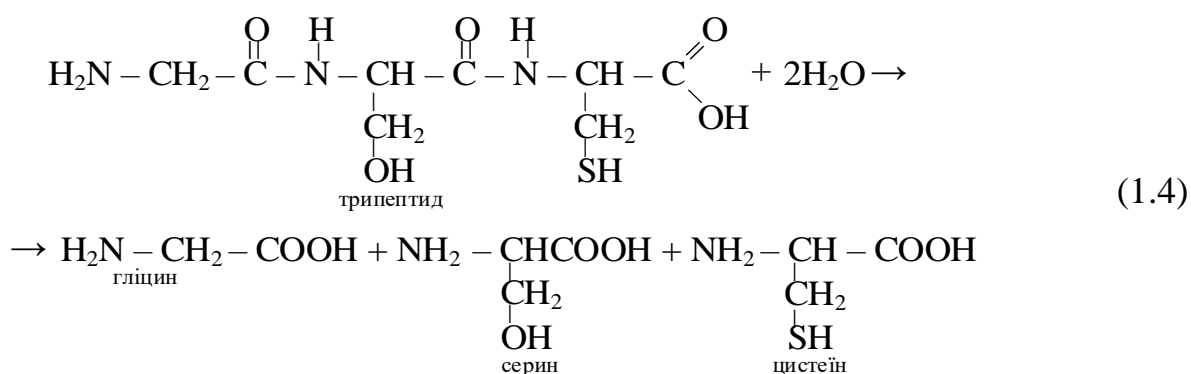
– метаногенна стадія, яка призводить до кінцевого продукту – метану.

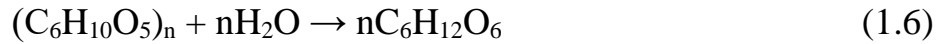
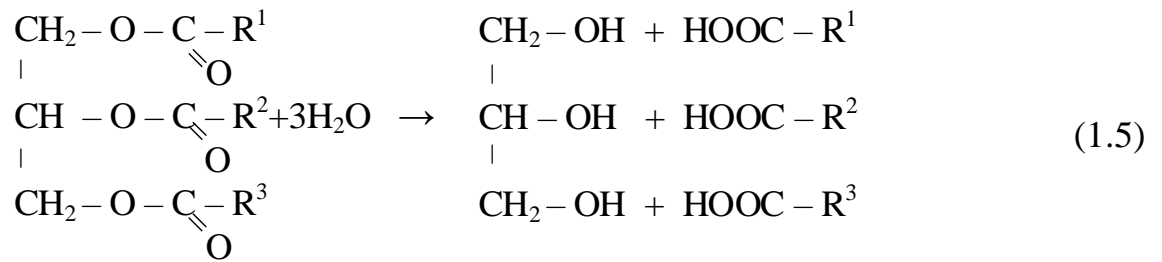
На першому етапі процесу задіяні мікроорганізми, що володіють целюлозолітичною, протеолітичною, ліполітичною, сульфовідновлюючою, денітрифікуючою та іншими видами активності. Склад домінуючої мікрофлори цієї фази залежить від складу мікрофлори вхідної сировини (субстрату), а також від хімічної природи проміжних продуктів розпаду органічних речовин.

Кількість аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів у цій фазі досягає 10^6 кл/мл, а вміст облигатних анаеробів на 2-3 порядки вищий. Серед целюлозоруйнуючих бактерій виявлені штами видів *Bacterioides ruminicola*, *Butyrivibrio fibriosolvens* (руйнують целюлозу).

Серед протеолітичних бактерій виділяються штами родів *Clostridium*, *Peptococcus anaerobis*, *Bacterioides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*. Загальна кількість протеолітичних бактерій досягає 10^5 кл/мл. У цій фазі біля 76 % органічних речовин перетворюється у вищі жирні кислоти, до 20 % – в ацетат і 4 % – у Гідроген.

На першому етапі анаеробного зброджування відбувається ферментативне гідролітичне розщеплення органічних речовин широким спектром ферментів класу гідролаз, що виділяються в середовище анаеробними бактеріями-гідролітиками». Під їх дією високомолекулярні сполуки (вуглеводи, жири, білкові речовини) трансформуються в низькомолекулярні. У загальному вигляді хімізм цього етапу може бути виражений рівнянням 1.4–1.6:





У цілому гідролітичний етап процесу біометаногенезу може бути описаний рівнянням хімічної кінетики першого порядку, згідно до якої швидкість протікання реакції розраховується пропорційно до поточної концентрації субстрату, що розкладається.

Зростання біомаси мікроорганізмів при цьому описується рівнянням Моно 1.7.

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\mu_m S}{K_S + S} x \quad (1.7),$$

де μ_m – максимальна швидкість росту мікроорганізмів за даних умов, S – концентрація субстрату, K_S – константа, що чисельно дорівнює концентрації субстрату, за якої швидкість росту культури дорівнює половині максимальної.

Цей вид рівняння Моно є аналогічним формулі Міхаеліса–Ментен із ферментативної кінетики. Швидкість зростання біомаси залежить від швидкості переробки субстрату (лімітуючий фактор) ферментом у метаболічному ланцюгу. Якщо концентрація фермента на одиницю біомаси позначити як E_0 , то за законом Міхаеліса швидкість переробки субстрату одиницею мікробної біомаси має вигляд:

$$\frac{1}{x} \frac{dS}{dt} = - \frac{kE_0 S}{K_m + S} \quad (1.8),$$

де K_m – константа Міхаеліса, k – константа швидкості реакції. Загальна біомаса x має кількість фермента $E_0 x$, таким чином сумарна швидкість зменшення кількості субстрату дорівнює:

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{kE_0 S x}{K_m + S} \quad (1.9)$$

За необмежених ресурсів поживних речовин величина μ є сталою й рівняння 1.7 описує експоненційне зростання популяції клітин. За появи будь-яких факторів, що обмежують цей ріст, μ буде зменшуватися. Найчастіше величиною, що обмежує ріст, у мікробіологічних системах є концентрація субстрату.

У свою чергу низькомолекулярні сполуки, що утворилися на першому етапі, під дією ацидогенних бактерій (другий етап) перетворюються на леткі жирні та інші органічні кислоти, спирти, альдегіди, амоніак, гідроген сульфур, карбон (IV) оксид, Гідроген і воду. Особливо важливим є утворення в цій фазі пірувату, що в подальшому веде до синтезу оцтової кислоти (1.10), та форміату (1.11). Їх джерелом слугують чисельні цукри, що піддаються зброджуванню.



Органічні кислоти, що утворилися, за винятком оцтової та мурашиної, під дією особливої групи бактерій-ацетогенів перетворюються на оцтову і мурашину кислоти, Гідроген та ін. У результаті перших трьох етапів – гідролітичного, ацидогенного і ацетогенного – у середовищі накопичується ацетат та форміат, метанол, метиламін, Гідроген, карбон (II) і карбон (IV) оксиди, амоніак, гідроген сульфур, фосфор (V) оксид.

Процес біодеструкції органічної речовини внаслідок її ферментації починається зазвичай за аеробних умов, які утворюються в результаті витрачання кисню на окислення субстратної біомаси ще під час гідролітичного розкладу останньої.

Розклад органічного субстрату за аеробних умов відбувається під дією ферментів бактерій, грибів і актиноміцетів, які є гетеротрофними організмами, що використовують Карбон органічних сполук не лише як матеріал для пластичного обміну, а й як джерело енергії. На утворення компонентів мікробної клітини використовується також Нітроген, Фосфор, Калій та інші елементи та їх сполуки. Деякі дані вказують на те, що до 2/3

Карбону органічних речовин субстрату після їх перетворення мікроорганізмами виділяється у вигляді вуглекислого газу, який утворюється внаслідок окисних процесів, а $1/3$ – використовується на синтез компонентів клітин бактерій та грибів. Енергія, яка вивільняється в результаті окислення органічних сполук субстрату, використовується мікроорганізмами на забезпечення процесів своєї життєдіяльності не повністю, а частково виділяється у навколишнє середовище і сприяє підвищенню температури біомаси (екзотермічний процес) [62].

Під час окислення грам-молекули глюкози за аеробних умов утворюється близько 474–484 ккал теплової енергії. Це суттєво підвищує температуру субстрату, що піддається впливу мікроорганізмів. Процес окислення органічних речовин на цьому етапі відбувається у дві фази. Під час першої фази температура субстратної суміші підвищується до 40–50 °С під дією мезофільних бактерій, а під час другої – завдяки активації термофільних мікроорганізмів може підвищитися і до 60–70 °С. Тобто значне підвищення температури субстрату, який складається переважно з органічних залишків, залежить від узгодженої дії мезофільних і термофільних бактерій. Однак температурною межею в більшості випадків є 70 °С, оскільки за подальшого підвищення температури життєдіяльність представників термофільної мікрофлори метантенка також припиняється. Процеси перетворення органічної речовини субстрату, що відбуваються за температури, вищої за 80°C, протікають без участі ферментів мікроорганізмів.

Під час ферментації органічних субстратів з подальшим метаногенезом кількість мікроорганізмів може перевищувати аналогічні показники для компостування в 10–20, а іноді в 50 разів [63–65]. Так, на початку ферментації, особливо на сьомий день у компостній масі значно збільшується вміст маслянокислих бактерій, які окислюють продукти розщеплення клітковини і пектинів. Згодом кількість цих бактерій зменшується, а потім, перед завершенням процесу, знову збільшується.

Початок процесу аеробного окислення фосфорорганічних сполук субстрату характеризується збільшенням кількості бактерій, які розщеплюють ці речовини. Їх чисельність сягає максимуму на сьомий–десятий день від початку ферментації. В іншій групі мікроорганізмів, що перетворюють фосфорнеорганічні сполуки субстрату на розчинну форму, найбільша чисельність клітин спостерігається через 15–20 діб після початку ферментативних процесів. Згодом їх кількість суттєво зменшується [66].

За перші 35–45 діб біоконверсії органічної речовини у субстраті стрімко збільшується чисельність амоніфікувальних, а також нітрифікувальних і денітрифікувальних бактерій. Розвиток мікроорганізмів, а, відповідно, й швидкість та ефективність процесу розкладання біомаси з подальшим метаногенезом, безпосередньо залежать від співвідношення Карбону до Нітрогену у вихідному матеріалі, рН, вмісту кисню, органічних речовин у субстраті, його вологості, розміру фракцій тощо [67].

Таким чином процес біометаногенезу є складним біохімічним і біофізичним явищем, у якому беруть участь щонайменше три групи бактерій. На початковому етапі перша група перетворює складні органічні субстрати на масляну, пропіонову та молочну кислоти; потім бактерії другої групи перетворюють ці органічні кислоти на оцтову кислоту, Гідроген і карбон (IV) оксид. Нарешті метаногенні бактерії відновлюють карбон (IV) оксид до метану з поглинанням Гідрогену, що у протилежному випадку може інгібувати розвиток оцтовокислих бактерій.

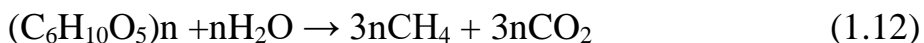
Оскільки традиційно біогаз одержують зі складних органічних речовин (клітковини, крохмалю, білків, жирів, нуклеїнових кислот), джерелом яких у нашому випадку є надлишкова біомаса гідробіонтів, то для метаноутворення застосовують багатокомпонентні мікробні асоціації. Поряд з метаноутворювальними бактеріями культур *Methylococcus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Methylosinus sp.* до складу таких асоціацій входять мікроорганізми, що конвертують органічні субстрати в метанол, форміат і

т.д. У випадку, коли субстратом є стічні води, окрім метаногенних асоціацій, у процесі задіяні й інші мікроорганізми.

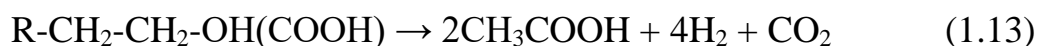
На кінцевому етапі метаногенеза, найбільш нами дослідженому, метильні групи з переносника поступають на кофермент М (КоМ-SH), з утворенням метил-КоМ. Далі відбувається його відновлення, що супроводжується розпадом комплексу і виділенням CH_4 . Обидві реакції каталізуються метилредуктазною системою, що являє собою складний мультиферментний комплекс, до складу якого окрім фермента входять кофермент М, фактор F430. Для активності системи необхідні АТФ, йони Mg^{2+} , а також ще не ідентифіковані кофактори. Окиснення Гідрогену карбон (IV) оксидом каналізують ферменти класу оксидредуктаз, а декарбоксилізація ацетату відбувається за участі ліаз лише у представників двох родів – *Methanosarcina* та *Methanotherix*.

Інтенсивність синтезу метану багато в чому залежить від концентрації в субстраті кисню та інших інгібіторів цього процесу. Співвідношення різноманітних умов протікання метаногенезу (сумарне рівняння реакції $4\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH} + 18\text{H}_2\text{O} \rightarrow 15\text{CH}_4 + 13\text{CO}_2$): рН 6.0 – 8.0, t – не менше 30°C , співвідношення N/C і твердих компонентів до води, зумовлює його тривалість від восьми до двадцяти діб [18].

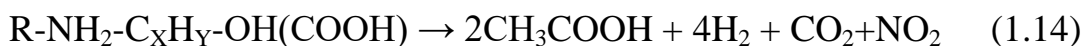
Стехіометрія процесу може бути описана спрощеним рівнянням реакції (1.12):



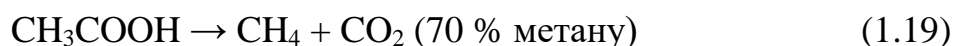
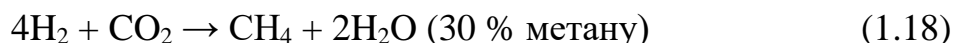
Було з'ясовано, що похідні пропілового спирту та пропіонової кислоти уповільнюють виділення метану, реакція інгібується на стадії утворення оцтової кислоти (1.13):



Нітрогеновмісні сполуки дають додатково нітроген (IV) оксид, хоча і в невеликих кількостях (1.14):



Реально утворення метану відбувається за такими реакціями (1.15–1.19):



Для метанобактерій характерна здатність до росту за наявності Гідрогену та вуглекислого газу. У природних умовах метанобактерії тісно пов'язані з мікроорганізмами, що утворюють Гідроген. Такий симбіоз є вигідним, оскільки метанобактерії здатні споживати Гідроген, зменшуючи його кількість, що сприяє розвитку утворювачів Гідрогену.

Утворення метану відбувається при симбіотичному існуванні *Clostridium pectinofermentans* і *Methanosarcina vacuolata*. При цьому субстратами метаногенеза є Гідроген, метанол і ацетат, які синтезуються *C. pectinofermentans* з пектину.

Асоціації метаноутворювальних мікроорганізмів є облігатними анаеробами, і лише деякі метаногени здатні витримувати короткотривалу наявність кисню. Відповідні умови у біореакторі забезпечуються, окрім герметизації апаратури, завдяки наявності факультативних анаеробних бактерій типу *Escherichia coli* Т. Escherich та ін.

Значною мірою на процес утворення біогазу впливає якість субстрату. З одного боку, різноманітність складу метаногенної асоціації бактерій дозволяє переробляти практично будь-які органічні відходи, з іншого, для підтримання на потрібному рівні життєдіяльності усіх мікроорганізмів необхідним є дотримання в субстраті співвідношення вмісту Карбону до вмісту Нітрогену в межах 10–30 до одного за одними джерелами і 30 до одного – за іншими. Якщо співвідношення С:N надмірне ($\gg 30$), то брак Нітрогену спричиняє уповільнення процесу метанового зброджування, якщо

ж дане співвідношення мале ($\ll 10$), то утворюється значна кількість амоніаку, який є токсичним для бактерій.

Відоме також і інше співвідношення для визначення зброджування a , за яким жири зумовлюють найбільший вихід біогазу із високим вмістом метану, білки – дещо менше, проте також із високим вмістом CH_4 , а вуглеводи – найменше із найнижчим значенням вмісту метану:

$$a = 0,92f + 0,62c + 0,34b \quad (1.20)$$

де f , c , b – відповідно вміст жирів, вуглеводів і білків в 1 г сухої речовини. Коефіцієнти в формулі означають питомий вихід біогазу з речовин, що завантажуються. З іншого боку, на продуктивність установки впливає не тільки склад, але і консистенція субстрату. Важливим є запобігання його розшаруванню та ретельне подрібнення [68].

На сьогодні відомо 17 родів метанобактерій (*Methanosarcina*, *Methanobrevibacter*, *Methanobacter*, *Methanococcus*, *Methanospirillum*, *Methanothrix* та інші). Домінують серед них види *Methanospirillum hungati* та *Methanobacter formicicum*. Пізніше вчені Японії виявили ще один вид цього роду – *M. kadomensis*. Метаногенез масовою культурою цього штаму здійснюється за вісім діб (звичайно для цього процесу необхідно 20 діб). Використання нового штаму може значно покращити організацію процесу біометагенезу на практиці.

Усі штами метанобактерій характеризуються здатністю до росту за наявності Гідрогену та вуглекислого газу, ці бактерії також проявляють високу чутливість до кисню, а також до інших інгібіторів утворення метану. Синтезувати метан можуть близько 50 видів із 17 родів, які належать до *Archaeobacteriobionta*. Хоча їх і прийнято розглядати як групу метаносинтезувальних бактерій, але генетично ці види досить неоднорідні. Берджі виділяє три порядки метаногенів: *Methanococcales*, *Methanobacteriales* і *Methanomicrobiales*.

Розвиток усіх бактерій – метаногенів є чутливим до вмісту кисню в системі, для деяких з них ріст повністю пригнічується вже за вмісту в газовій фазі кисню з концентрацією 0,004 %. Більшість з метаногенів належать до мезофілів, оптимальна температура їх розвитку – 30–40 °C, оптимум pH

становить 6,5–7,5 [69]. Майже половина видів метаногенів належать до автотрофів, фіксація CO_2 в них відбувається завдяки ацетил-СоА, для деяких метаногенів характерна азотфіксація (*Methanobacterium formicium*, *Methanosarcina barkeri*).

Для механізму фіксації Сульфуру найчастіше необхідна відновлена форма, можливе залучення Сульфуру в молекулярній формі та в формі сульфід-аніону. Тільки незначна кількість видів метаногенів (*Methanococcus thermolithrophicum*, *Methanobrevibacter ruminantium*) здатна засвоювати Сульфур у формі сульфат-аніонів.

Здатність окиснювати H_2 карбон (IV) оксидом характерна майже для всіх метаногенів. Саме метаногени завершують анаеробну деструкцію органічної складової ціанобактерій з використанням Гідрогену, вуглекислого та чадного газу й органічних кислот – продуктів процесу бродіння.

Брайант відкрив [69] симбіоз оцтовокислих і метаноутворювальних мікроорганізмів (раніше вважався одним мікробом і мав назву *Methanobacillus omelianskii*). Характерною особливістю метанобактерій є здатність до росту за наявності вуглекислого газу та Гідрогену. Вони також проявляють високу чутливість до кисню та інгібіторів синтезу метану.

І для метанобактерій, і для Гідроген-редукувальних бактерій вигідна трофічна асоціація: у природних умовах вони тісно взаємопов'язані між собою. Метанобактерії для своєї життєдіяльності використовують газоподібний Гідроген, який є продуктом життєдіяльності Гідроген-редукувальних бактерій. У результаті асоціативного співіснування концентрація Гідрогену знижується і є нижчою за поріг небезпечності для Гідроген-редукувальних бактерій.

Дослідженнями [68, 69] встановлено, що ріст метаногенних бактерій (а відповідно і вихід біогазу) пригнічується зі зменшенням рН. Зменшення виділення біогазу спостерігається також за умов надмірного збільшення ступеня завантаження реактора сировиною. Для регулювання оптимальних значень рН у системі (максимальний ступінь перетворення спостерігається за умов, наближених до нейтральних, рН дорівнює 6,0–8,0) використовують дозування вапна. Вибір оптимального температурного інтервалу залежить від того, в якому режимі (мезофільному чи термофільному) реалізується процес

синтезу біогазу: у першому випадку він складає 30–40 °С, у другому – 50–60 °С, при цьому шкідливі різкі зміни температурного режиму (так званий термошок).

Практично досягти оптимального співвідношення (C:N = 30:1 за масою) можна змішуванням субстратів багатих на Карбон і Нітроген (для рідкого гною це може бути досягнуто додаванням жому цукрового виробництва або соломи).

Процес біометаногенезу ніколи не закінчується повною метанізацією біомаси СЗВ. У біоконверсії бере участь менше половини органічної складової. Якщо повний потенційний запас енергії в 1 кг сухої речовини ціанобактерій складає 17,75 МДж, то реально метанізацією біомаси можна досягти виходу біогазу, який еквівалентний 7,54 МДж/кг сухої маси. Залишки непрореагованої органічної маси після закінчення метанового «бродіння» можна використовувати як добриво у сільському та лісовому господарстві [70–72].

Встановлено, що синтез метану протікає у мембранах клітин бактерій та спряжений з генерацією трансмембранного потенціалу, енергія якого трансформується в АТФ (рис. 3.7). Розглядаючи метаногенез із біохімічної точки зору, можна представити його як процес анаеробного дихання, під час якого процесу із органічних речовин електрони переносяться на карбон (IV) оксид, що спричиняє відновлення CO_2 до CH_4 (у процесі звичайного бродіння ацетальдегід відновлюється до етанолу). Донором електронів для метанобактерій окрім різних органічних речовин ціанобактерій є і Гідроген, який продукується декількома видами Гідроген-редуючих анаеробних бактерій. Вихід енергії на кожен утворений моль метану у метаногенів не перевищує двох молів АТФ. Тому для свого росту метаноутворюючі бактерії повинні синтезувати значну кількість метану. Зі 100 % метаболізованих сполук вуглецю вони трансформують у клітинний матеріал лише 5–10%, інше конвертують у метан.

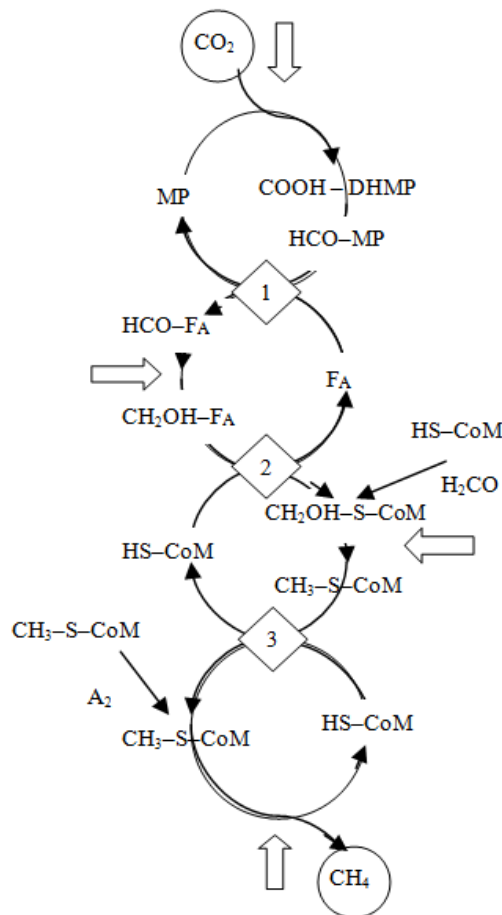


Рис. 1.5 – Схема утворення метану в наслідок відновлення CO₂

Реальну ефективність метаногенезу можна вивести з математичного рівняння:

$$E = (V \text{ CH}_4 \text{ р.} / V \text{ CH}_4 \text{ т. max}) \cdot 100 \%, \quad (1.21)$$

де $V \text{ CH}_4 \text{ р.}$ – об'єм метана, який реально утворюється в метантенку з досліджуваної проби біомаси СЗВ, см³:

$$V \text{ CH}_4 = \frac{N \text{ CH}_4 \text{ р.} \cdot T_0 \cdot V_{\text{газ. фази}}}{T_1 \cdot p_0} \quad (1.22)$$

де $V \text{ CH}_4$ – вміст метану у газовій фазі, %; $V_{\text{газ. фази}}$ – об'єм газової фази в метантенку, дм³; T_0 – температура за н. у. (298 K); T_1 – температура, за якої відбувається метаногенез, K; p_0 – тиск за нормальних умов, 10⁵ Па; p – тиск у реакторі, Па; $V \text{ CH}_4 \text{ т. max}$ – теоретично розрахований максимально можливий об'єм метана, см³ (за рівнянням Клапейрона).

Активна мезофільна накопичувальна культура, що стабільно гідролізує целюлозу до метану за 5–7 діб за температури культивування 30°C, може бути відносно легко відселекціонована з активного мулу метантенків станції

біологічного очищення стічних вод. З накопичувальної метаногеної культури надалі ізолюються штами: первинних анаеробів, що гідролізують целюлозу (целюлолітичні бактерії), бродильних (сахаролітичні бактерії) і вторинних анаеробів – метанутворювальних археїв [73, 74].

Характеристика целюлолітичного штаму 5СТ: Прямі, ледве вигнуті палички розміром $0,5\text{--}0,6 \times 1,5\text{--}2,5$ мкм, поодинокі, парні або в ланцюгах до 10 мкм, грамнегативні. За несприятливих умов культивування (рН нижче 6,4, температура понад 30°C) вони утворюють термінально розташовані ендоспори. На поверхні щільного середовища культура формує дрібні, круглі, білі або прозорі колонії розміром 1–2 мм. У глибині целобіозного агару – колонії бобовидні, білі. Облігатний анаероб. Росте в діапазоні температур $25\text{--}65^\circ\text{C}$, оптимальна температура культивування – $30\text{--}40^\circ\text{C}$. Оптимальне значення рН 7,0–7,5. Ріст не спостерігається з рН понад 8,0 і нижче 6,5.

Для вивчення здатності виділеного штаму для росту використовуються різноманітні джерела Карбону. Установлено, що штам 5СТ здатний ферментувати, окрім целюлози та целобіози, також арабінозу, глюкозу, галактозу, сахарозу, ксилозу, слабо – фруктозу. На поживних середовищах МПА, МПБ, КПА не росте. Ріст спостерігається на мінеральному середовищі «Р» із дріжджовим екстрактом або вітамінами. На рідкому середовищі з целюлозою культура утворює жовтий пігмент. Ця властивість втрачати під час багаторазових пересівань, але здатність гідролізувати целюлозу зберігається. Під час росту на целобіозі, глюкозі, фруктозі проявляється слабка пігментація. Індол не утворюється. Каталаза й оксидаза відсутні. Основними екзометаболітами є Гідроген, карбон (IV) оксид, етанол, ацетат і лактат. Желатину не розріджує, нітратів не відновлює. Значення показника вмісту нуклеотидів Г+Ц у ДНК складає 39,04 моль %.

Характеристика сахаролітичного штаму 1S. Рухомі палички, поодинокі, парні або утворюють довгі ланцюги. Штам 1S має розміри клітин: $0,6\text{--}0,8 \times 3,0\text{--}5,0$ мкм. У експоненціальній фазі росту – негативна реакція під час фарбування за Грамом, з переходом у стаціонарну фазу – грампозитивна. На середовищі з целобіозою (22–30 год) і на середовищі з ксилозою або арабінозою (10 год) утворює термінальні, круглі спори. Поверхневі колонії –

біло-кремові, блискучі, опуклі, 1–2 мм у діаметрі, з рівними краями. Глибинні колонії – дрібні, ланцетоподібні. Облігатний анаероб. Зростає в діапазоні температур 25–50°C, оптимальна температура – 35–40 °C. Оптимальне значення рН 7,0–7,3. Ріст лише в діапазоні рН 5,0–8,0.

Штам 1S росте на середовищі «Р» з додаванням дріжджового екстракту або вітамінів. Використовує різні джерела вуглецевого живлення: глюкозу, фруктозу, целобіозу, сахарозу, крохмаль, галактозу, лактозу, рибозу, манозу, мальтозу, ксилозу, арабінозу. Не використовує целюлозу, саліцин, манітол, ескулін, амігдалін. Основними продуктами ферментації є Гідроген, карбон (IV) оксид, ацетат, етанол, бутират, лактат, у незначних кількостях утворює пропіонат. Желатину не розріджує, індолу не утворює, нітратів не відновлює. Вміст нуклеотидів Г+Ц у ДНК складає 31,9 моль % [75].

На підставі фізіолого-біохімічних і морфолого-культуральних ознак ізольовані штами 5СТ й 1S віднесено до роду *Clostridium*. Властивості дослідженого штаму 5СТ порівнювали з властивостями термофільних клостридій, здатних гідролізувати целюлозу та її похідні – *Clostridium thermocellum*, *C. stercorarium*, *C. cellulosi*, *C. thermocopriae*, *C. sraminisolvans*. За більшістю ознак, виділений штам 5СТ більш подібний до *C. thermocellum*. Однак, на відміну від типового штаму *C. thermocellum*, штам 5СТ ферментує більше субстратів (арабінозу, галактозу, сахарозу, глюкозу, слабо – фруктозу). Значення показника вмісту нуклеотидів Г+Ц у ДНК підтвердило належність дослідженого штаму до даного виду, для якого значення Г+Ц у ДНК перебуває в межах 38–40 моль %.

Властивості штаму 1S порівнювали з такими у сахаролітичних бактерій *C. thermosaccharolyticum*, *C. thermobutyricum*, *C. thermohydrosulfuricum*. Найближче штам 1S до *C. thermosaccharolyticum*, але штам 1S утворює (окрім етанолу, ацетату, бутирату) пропіонат під час росту на середовищі з целобіозою. Вміст Г+Ц у ДНК штаму 1S складає 31,9 моль %, що є підставою вважати його представником виду *Clostridium thermosaccharolyticum* [76].

Характеристика метанутворювального штаму 13М. Клітини штаму 13М – палички, розміром 0,5–0,6×7–100 мкм, вигнуті, утворюють ланцюги до 100 мкм. Грампозитивні, нерухомі. Поверхневі колонії опуклі, з рівним краєм, коричнюваті, округлої форми, 1–2 мм у діаметрі. У рідкому

середовищі культура росте у вигляді опалесцентної суспензії. Ріст та утворення метану штамом 13М спостерігали на мінеральному середовищі «Р» з Гідроген-вуглекислотою сумішшю як єдиним джерелом Карбону й енергії. Ріст відсутній на середовищі з ацетатом, форміатом, метанолом, метиламінами. Облігатний анаероб. Ріст і утворення метану відбувається в діапазоні температур 30–65°C, з оптимумом 35–40°C. Діапазон рН 6,5–8,0, оптимальне рН 7,0–7,5. Ріст стимулюється внесенням у середовище дріжджового екстракту [77]. Порівняння діагностичних ознак штаму 13М з описаними термофільними метаногенами є підставою вважати його представником роду *Methanobacterium*.

Характеристика метанутворювального штаму 84MS. Клітини штаму – коки (1–2 мкм у діаметрі), які розмножуються мітозом у різних напрямках і поєднуються по 2, 4, 8 у сарциноподібні нерухомі пакети (біотип I). Колонії на щільному середовищі – зернисті, жовтуватого кольору 0,5–1 мм у діаметрі. Облігатний анаероб. Ріст та утворення метану штамом 84MS спостерігали на мінеральному середовищі «Р» із субстратами: метанолом, ацетатом, метиламінами, повільно – на Гідроген-вуглекислотній суміші. Росте в діапазоні температур 20–50°C, з оптимумом 35°C; зі значеннями рН від 6,0 до 8,0 з оптимумом 6,8–7,0. Ріст і метанутворення стимулювали додаванням дріжджового екстракту. Порівняння властивостей виділеного штаму 84MS з відомими термофільними метаногенами є підставою вважати його представником роду *Methanosarcina* [77].

Отже, з мезофільного метаногенного біоценозу активного мулу метантенка ізолювано термофільні анаеробні штами мікроорганізмів, які можуть трансформувати складні органічні речовини в біопаливо. На підставі морфолого-культуральних і фізіолого-біохімічних властивостей виділені штами ідентифіковано як *Clostridium thermocellum* 5CT, *Clostridium thermosaccharolyticum* 1S, *Methanobacterium* sp. 13M, *Methanosarcina* sp. 84MS [78].

Для свіжої речовини та дигестату визначено рН, ХСК, БСК₅ та співвідношення вмісту Карбону та Нітрогену. Серед нижчих карбонових кислот найбільший вміст зафіксовано для ізомасляної кислоти (до 204 мг/дм³

у свіжій речовині та до 43 мг/дм³ у дигестаті). У щойно відібраній біомасі ціанобактерій спостерігаються оцтова й пропіонова кислоти (84 мг/дм³ та 92 мг/дм³ відповідно). Серед решти зразків нижчі карбонові кислоти трапляються у незначній кількості.

Під час детального дослідження фізико-хімічних і біологічних параметрів метаногенезу ціаней встановлено, що:

а) наявність аліфатичних органічних речовин у біомасі СЗВ типу оцтової, пропіонової, фенілоцтової та інших кислот збільшує вихід біогазу;

б) гетероциклічні сполуки неароматичного характеру, до складу яких входять Нітроген і Сульфур, є джерелом утворення в біогазі гідроген сульфур і невеликих кількостей амоніаку;

в) ароматичні речовини типу фенолу, похідні толуолу, ксилолу є лімітувальними чинниками в процесі отримання біогазу;

г) сумарний метаногенез відбувається за експоненціальним законом з оптимальним виходом біогазу за $t = 35\text{--}37^{\circ}\text{C}$; підвищення температури збільшує вміст побічних домішок (CO , H_2S , NH_3) і ненасичених вуглеводнів типу етилену, пропілену тощо.

Окрім того, вбачається перспективним подальша розробка економічно привабливих технологічних методів отримання на базі органічного субстрату масових форм гідробіонтів (насамперед біомаси *Microcystis aeruginosa*) цінних, зокрема біологічно активних, речовин, які можуть бути використані в різних галузях національної економіки. Досить ефективним вважається вилучення із субклітинних продуктів розпаду СЗВ високомолекулярних органічних сполук, зокрема фосфоліпідів, фотопігментів, токсинів тощо.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ, ПРЕДМЕТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Об'єкт і предмет досліджень

Основним об'єктом досліджень у дисертаційній роботі є екологічна (природоохоронна) біотехнологія (рис. 2.1) переробки масових форм гідробіонтів (на прикладі біомаси СЗВ), що утворюється під час «цвітіння» води внаслідок її евтрофікації.

Предметом наших досліджень є СЗВ, біомасу яких доцільно використовувати як новий відновлювальний субстрат для біотехнології отримання корисних цільових продуктів. При цьому в субстратом і біоагентами є різні групи живих організмів. У першому випадку це переважно представники фотосинтезувальних мікроорганізмів – продуценти первинної біомаси у трофічних ланцюгах. У другому – комплекс бактерій-симбіонтів, що забезпечують розпад і руйнування цієї біомаси з отриманням у результаті кінцевих продуктів, що можуть бути ефективно використані людиною для забезпечення своїх економічних потреб.

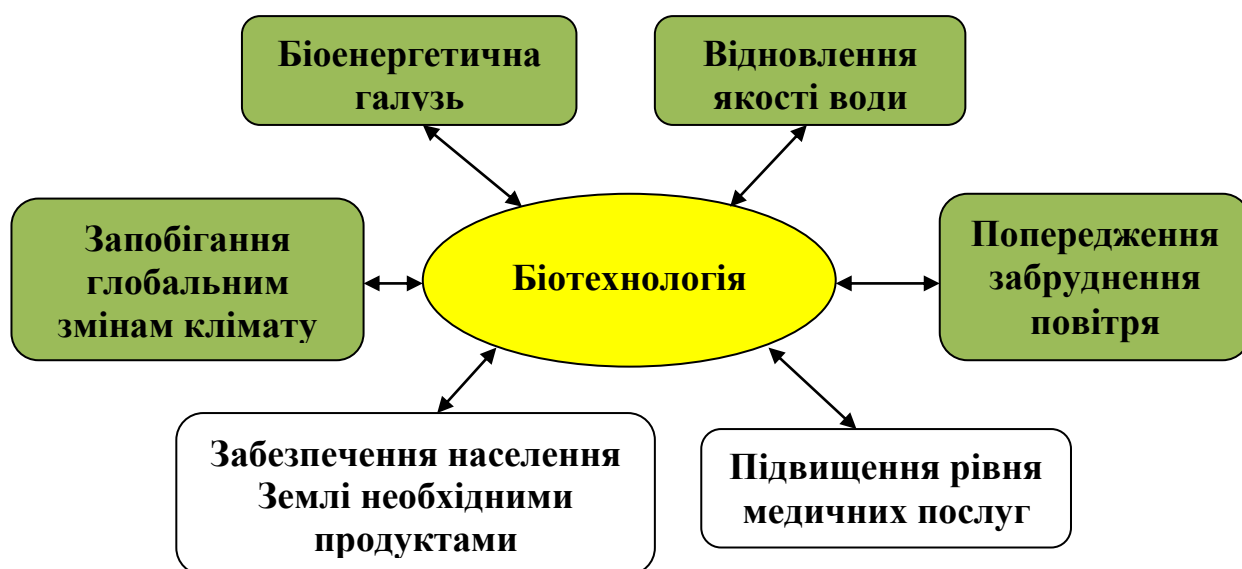


Рис. 2.1 – Складові екологічної біотехнології

Особливістю технологічного процесу біоконверсії органічної речовини, що піддається всебічному дослідженню в рамках цієї роботи, є використання як субстрату надлишкової біомаси ціанобактерій (рис. 2.2).

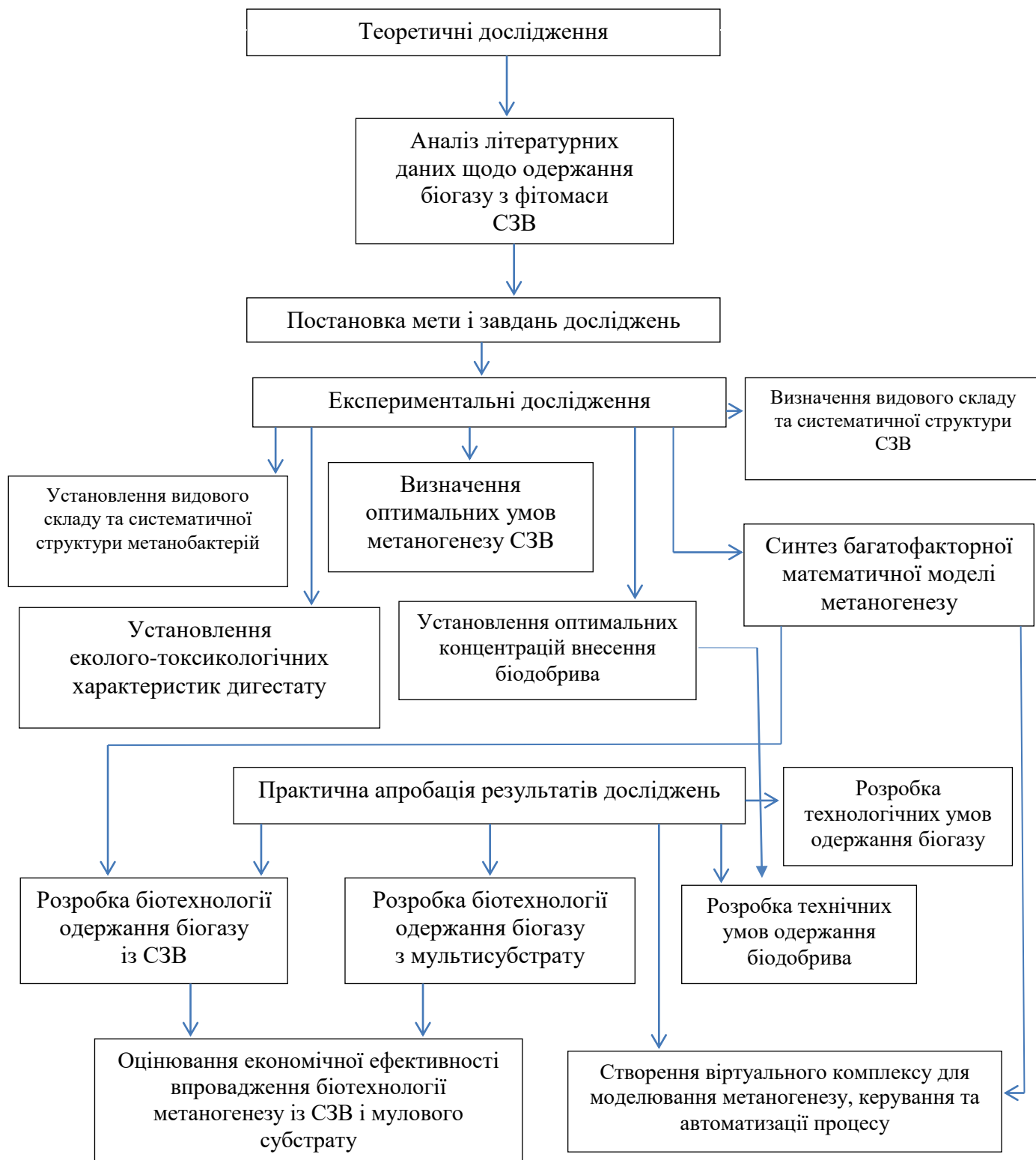


Рис. 2.2 – Програма досліджень

Зокрема в умовах «цвітіння» дніпровських водосховищ, де відбиралася основна частина біомаси для дослідження, переважна її частина припадала на вид *Microcystis aeruginosa* порядку хроококових (*Chroococcales*) СЗВ. Хоча морфологічно (відсутність сформованого ядра та багатьох мембранних органел у клітині, бактеріальний тип фотопігментів тощо) цей вид належить до бактеріальних організмів і за класифікацією Тахтаджяна А. Л. належить до класу *Chroococcophyceae* відділу *Cyanobacteria* підцарства *Oxiphotobacteriobionta*. У науковій літературі він традиційно згадується під загальноновживаною назвою «синьо-зелені водорості» [79, 80].

Клітинні стінки СЗВ мають багато прокаріотичних ознак і дуже схожі на такі у грамнегативних бактерій. У внутрішньому шарі оболонки містяться пептидоглікани: муреїн, глікопептид, мукопептид. Зосереджені в периферичній зоні протопласту (хроматоплазмі) пігменти клітин СЗВ локалізуються у ламелах – специфічних пластинчастих утвореннях. Також хроматоплазма містить рибосоми та вкраплення – різноманітні кристали, а також ціанофіцинові зерна, що складаються з ліпопротеїдів і утворюють ектопласти.

Центроплазма СЗВ складається з гіалоплазми та різноманітних гранул, що є хроматиновими елементами, а також паличок і фібрил. Гіалоплазма та хроматинові елементи містять ДНК і під час поділу також розподіляються між новоутвореними клітинами в однакових співвідношеннях. Це утворення виконує функції ядра у прокаріотичній клітині СЗВ і наивається нуклеїдом. До його складу входять поліфосфатні гранули, вакуолі, рибосоми, що містять РНК, але ядерної мембрани та ядерця нуклеїд не має.

Протоплазма клітин мікроцистису, як і інших СЗВ, характеризується густішою консистенцією та відсутністю руху, порівняно з таким у рослинних організмів. Важливою таксономічною ознакою мікроцистису є наявність у його протоплазмі так званих псевдовакуолей – газових порожнин неправильної форми, заповнених Нітрогеном, які нерідко трапляються й у інших представників СЗВ, що ведуть планктонний спосіб життя. Вони

виникають на межі хроматоплазми і центроплазми. Однак за певних умов зовнішнього середовища, зокрема восени з підвищенням рівня кисню у воді, газові вакуолі можуть бути майже повністю відсутніми. Звичайні вакуолі, що містять клітинний сік, спостерігаються лише у старих клітинах незадовго до їх загибелі.

Колір протопласта залежить від виду СЗВ, умов існування та віку їх клітин. Внутрішньоклітинні пігменти мікроцистису можна умовно поділити на чотири групи: хлорофіли, каротиноїди, ксантофіли, біліпротеїди. Для ціанобактерій характерна наявність хлорофілу «а», каротиноїди представлені α -, β - та ϵ -каротином, ксантофіли – ахінеоном, зеаксантином, криптоксантином, місоксантофілом та ін., а біліпротеїди – с-фікоціаніном, с-фікоеритрином та алофікоціаніном. Водночас у представників СЗВ повністю відсутній більш ефективний з огляду на фотохімію хлорофіл «b», що вкотре доводить еволюційну давність цієї групи мікроорганізмів.

Специфічний фотопігментний склад СЗВ дозволяє більшості з них досить легко переносити тривале затемнення і займати екологічні ніші зі світловим і кисневим режимом, мало сприятливим для інших організмів. Слиз СЗВ також часто містить пігменти, що в свою чергу може спотворювати сприймання справжнього кольору клітин. Головними екологічними чинниками, що впливають на колір слизу, зазвичай є хімізм середовища та його рН, а також рівень освітлення.

У процесі фотосинтезу в хроматоплазмі клітин СЗВ утворюється хімічно схожий на глікоген глікопротеїд. Там же відбувається і його відкладання як запасної речовини. У зовнішньому шарі хроматоплазми розташовуються ціанофіцинові зерна, які складаються з ліпопротеїдів. У центроплазмі у вигляді волютинових зерен запасуються речовини білкової природи. Полісахаридні зерна розміщуються між фотосинтетичними ламелами.

Наявність вищезазначених речовин у клітинних структурах СЗВ та їх загальний хімічний склад дозволяють розглядати органічну масу цих

гідробіонтів як природний відновлюваний субстрат для різних галузей сучасних напрямів з перспективою його переробки на цілий ряд цільових продуктів, що мають певну економічну цінність.

2.2 Методи досліджень

У цьому підрозділі коротко висвітлено 17 різнопрофільних методик, використаних у дослідженні. Їх можна умовно об'єднати у чотири групи методів: математичні, фізичні, хімічні та біологічні. Детальніше зазначені методики описані у відповідних підрозділах.

До *математичних методів*, результати застосування яких обговорюються в роботі, належать статистичні, комп'ютерні методи та моделювання. Серед статистичних були використані чисельні біометричні методи кількісного оцінювання об'єктів дослідження, оскільки біометрія є розділом варіаційної статистики, за допомогою методів якої здійснюють обробку експериментальних даних і спостережень, а також планування кількісних експериментів у біологічних і технічних дослідженнях [81, 82].

Під час виконання роботи найчастіше здійснювалося визначення абсолютного та відсоткового числа об'єктів. При цьому розраховувалися як прості коефіцієнти, так і складніші параметри розподілу (середніх арифметичної та квадратичної дисперсії тощо), наприклад, відсоток загиблених тест-об'єктів для визначення токсичності води за формулою:

$$A = \frac{x_k - x_m}{x_m} \cdot 100 \%, \quad (2.1)$$

де x_k та x_m – середні арифметичні числа особин, що вижили в контролі й тесті відповідно.

Комп'ютерна техніка використовувалася для створення і обробки баз даних. Для розрахунку складних коефіцієнтів за оригінальними алгоритмами було застосовано пакет програм «Microsoft EXCEL», який використовувався також для графічного оформлення отриманих результатів досліджень та інших операцій.

Під час *моделювання*, основною задачею якого є експериментальна

перевірка гіпотез, порівнювалися реальна система та її штучна подоба – модель [83]. У процесі моделювання використовувалися натурні моделі, що відображають найсуттєвіші риси оригіналу, а також знакові та концептуальні моделі, які характеризуються детальним описом системи (схеми, таблиці, графіки, математичні вирази тощо). При цьому основною метою було емпіричне прогнозування, що полягає у статистичній обробці даних рядів спостережень та екстраполяції цих даних на майбутнє. У такому разі визначалися зв'язки окремих біологічних показників з абіотичними і біотичними характеристиками.

Фізичні методи поєднують механічні та приладові. Серед *механічних*, згідно з уніфікованими методиками, застосовувалися відбір проб води та біологічного матеріалу, а також вимірювання за допомогою лінійки, рулетки чи методи оцінювання фізичних параметрів об'єктів дослідження в польових умовах. Серед приладових методів найчастіше використовувалися польові замірювання за допомогою простих (термометр, ареометр тощо) і складніших приладів. У камеральних умовах дослідження проводилися також простими фізичними методами (зважування, фільтрування, нагрівання, розчинювання, висушування, осадження за допомогою центрифуги тощо).

Для визначення фізико-хімічних властивостей зразків біогазу застосовувався лабораторно-аналітичний метод; рентгенофлуоресцентний аналіз – для вимірювання масової частки (%) основних хімічних елементів у зразках субстратного біоматеріалу; абсорбційний аналіз – для визначення складових компонентів у зразках біогазу; методи біотестування – для визначення фітотоксичного ефекту органо-мінерального добрива на модельні організми культурних рослин і для виявлення гострої токсичної дії дигестату на модельні організми ракоподібних; математичний метод варіаційної статистики – для обробки отриманих експериментальних даних і визначення ступеня їх достовірності; метод системного аналізу – під час аналізу та узагальнення результатів і розрахунків [84, 85].

Для вимірювання масової частки (%) основних хімічних елементів, що входять до складу зразків субстратного біоматеріалу, з арсеналу

лабораторно-аналітичних методів був вибраний рентгенофлуоресцентний аналіз. Дослідження проводилися на базі лабораторії Львівського національного університету «Львівська політехніка» із застосуванням рентген флуоресцентного аналізатора EXPERT 3L.

Діапазон вимірювання хімічних елементів (діапазон контролю) приладу знаходиться в межах від магнію (^{12}Mg) до урану (^{92}U). Механізм роботи зазначеного аналізатора полягає в тому, що під час взаємодії зразка з високоенергетичним рентгенівським випромінюванням частина променів проходить через зразок, частина розсіюється, а частина поглинається речовиною зразка. Одним з ефектів такого поглинання є рентгенівська флуоресценція – генерування речовиною вторинного рентгенівського випромінювання. В основу роботи аналізатора EXPERT 3L покладено методика енергодисперсійного рентгенофлуоресцентного елементного аналізу за методом фундаментальних параметрів з порушенням характеристичного випромінювання атомів проби фотонами гальмівного спектра малопотужної рентгенівської трубки і реєстрацією цього випромінювання напівпровідниковим PIN-детектором з термоелектричним охолодженням.

Досліджувана проба розміщувалася у вимірювальній камері блока з вимірювання. У камері із зачищеною кришою проба піддавалася дії рентгенівського випромінювання, що генерувалося УРВ. Енергія фотона на електричний сигнал перетворювалася завдяки детектору з передпосилувачем. Амплітуда сигналу при цьому пропорційна енергії фотона. Потім сигнал через кабель потрапляв до модуля спектрометричного підсилювача, де піддавався формуванню та підсиленню. Після закінчення експозиції відбувалося завантаження накопиченого спектра з буфера накопичення до буфера обробки (у пам'ять комп'ютера). Подальша повна математична обробка спектра здійснювалася за допомогою встановленого на обчислювальному приладі програмно-методичного забезпечення.

Прикладом більш складнішої використаної приладової техніки може слугувати кисневимірювач АЖА-101, робота якого заснована на вимірюванні

граничного дифузного струму з напругою, що відповідає відновленню на індикаторному електроді молекулярного кисню, розчиненого у воді (амперометричний метод кількісного аналізу); колориметр фотоелектричний концентраційний КФК-2МП для визначення екстинкції (оптичної щільності) забарвлених чи несправжніх розчинів, яка корелює з концентрацією розчинених речовин; аналітичні ваги ВЛА-200г-М, а також мікроскоп «Ningbo Shengheng XS – 3330» з відеоокуляром із загальним збільшенням до 2025 крат, а також сканувальний електронний мікроскоп РЕМ-106 В («Selmi»).

Атомно-абсорбційний аналіз ґрунтується на тому, що атом, поглинаючи підведену енергію, переходить у збуджений стан і приблизно через 10^{-8} с спонтанно переходить до нормального стану, повертаючи електрони на нижчі енергетичні рівні, при цьому відбувається виділення (емісія) у вигляді дискретних і характеристичних для кожного виду атомів електромагнітних коливань у видимій, ультрафіолетовій чи рентгенівській областях спектра. До того ж, спектри лінійчаті. Характеристика лінійчатих спектрів покладена в основу якісного емісійного спектрального аналізу, а функціональна залежність між концентрацією елемента в пробі та інтенсивністю його спектральних ліній покладена в основу кількісного аналізу.

Молекулярно-абсорбційний аналіз заснований на поглинанні електромагнітного випромінювання молекулами та складними йонами аналізованої речовини в оптичному діапазоні спектра (в ультрафіолетовій, видимій та інфрачервоній ділянках). У молекулярно-адсорбційній спектроскопії спостерігають і досліджують аналітичні сигнали, викликані електронними переходами зовнішніх валентних електронів. Поглинання випромінювання в інфрачервоній ділянці пов'язано зі зміною обертання і коливання молекул. Ця їхня властивість часто використовується для ідентифікації різних сполук.

Аналіз поглинання та розсіювання електромагнітного випромінювання зваженими частинками аналізованої речовини поділяється на турбідиметрію

та нефелометрію. Під час проходження світла через дисперсну гетерогенну систему відбувається ослаблення світлового потоку внаслідок розсіювання і поглинання цього потоку частинками дисперсної фази.

Згущення відібраних кількісних проб фітопланктону проводилося осадковим і фільтраційним методом. Згущення проб осадковим методом проводили після їх попередньої фіксації (4 % розчином формальдегіду) і відстоювання в темному місці протягом 15–20 діб з подальшим відсмоктуванням серединного шару води за допомогою скляної трубки, один кінець якої затягнутий млиновим ситом № 77 у декілька шарів, а інший з'єднаний з резиновим шлангом. Відсмоктування проводили дуже повільно і обережно, щоб не допустити порушення осаду та засмоктування поверхневого шару проби. Згущену таким чином пробу збовтували і, заміривши її об'єм, переносили у посудину меншого розміру. Для згущення проб фільтраційним методом використовували «попередні» фільтри. При цьому проби води попередньо не фіксували, а планктон досліджували переважно у живому стані.

Хімічні методи, використані в роботі, полягали в якісному та кількісному гідрохімічному аналізі. Якісний аналіз передбачав характерні реакції на присутність у пробах, що аналізувалися, певних речовин і хімічних елементів з попереднім використанням відповідних групових реактивів за уніфікованими схемами якісного аналізу. Кількісний аналіз полягав у визначенні загальних показників води: кислотність (рН-метрично), жорсткість (комплексометрично), загальна мінералізація (за сухим залишком після прожарювання в муфельній печі) і БСК₅ (стандартним методом розбавлення) [86].

Визначення хімічного складу зразків біогазу здійснено за допомогою газового аналізатора методом абсорбційного аналізу. Залежно від виду частинок, що поглинають енергію, та характеру взаємодії їх з електромагнітним випромінюванням, розрізняють атомно-абсорбційний аналіз, молекулярно-абсорбційний аналіз, флюорометричний (люмінесцентний) аналіз.

За допомогою комплексу фізико-хімічних методів з'ясовано вміст органічних сполук у свіжій біомасі СЗВ (субстраті) та дигестаті (табл. 1.2). Досліджувався концентрат органічної речовини, попередньо доведений до повітряно-сухого стану внаслідок висушування протягом двох діб у сушильній шафі за температури +100°C. Розроблено технічні умови на дигестат як біологічне добриво.

Таблиця 2.1 – Вміст органічних сполук у біомасі СЗВ

Зразок	Суха речовина		Водний розчин	
Матеріал	Субстрат	Дигестат	Субстрат	Дигестат
Місце і дата відбору	Кременчук, червень 2017			
Температура сушіння під час обробки, °C	105	105	Рідина	Рідина
Стабілізація проб, °C	– 22	– 22	– 22	– 22
Вміст води, %	99,00	99,20	–	–
Вміст сухих речовин, %	0,52	0,39	–	–
pH (у воді)	7,10	7,50	–	–
Провідність, mS/cm	2,67	3,88	–	–
ХСК, г/кг	–	–	10,43	9,43
NH ₄ -N (CaCl ₂) мг/кг сухої речовини	3,40	6,80	340 мг/дм ³	550 мг/дм ³
NO ₃ -N (CaCl ₂) мг/дм ³ сухої речовини	0	0	1	2
N _{Kjedahl} , мг/дм ³	9,10	10,00	900	800
Повна втрата під час прожарювання (550°C), %	84,80	79,00	–	–
C _{орг.} , %	40,10	37,10	–	–
C/N	8/1	4/1	–	–
Оцтова кислота, мг/дм ³	–	–	84	<20
Пропіонова кислота, мг/дм ³	–	–	92	<20
Ізомасляна кислота, мг/дм ³	–	–	204	43
Масляна кислота, мг/дм ³	–	–	<20	<20
Ізовалеріанова кислота, мг/дм ³	–	–	<20	<20
Валеріанова кислота, мг/дм ³	–	–	<20	<20
Загальний вміст летючих жирних кислот, мг/дм ³	–	–	380	43
Рацемат глюконової кислоти, мг/дм ³	–	–	98	91
Лактоза, мг/дм ³	–	–	21	<20
Галактоуронова кислота, мг/дм ³	–	–	25	<20
Ксилоза, мг/дм ³	–	–	<20	<20
N-ацетил-D-глюкозамін, мг/дм ³	–	–	30	<20
Гліцерин, мг/дм ³	–	–	36	<20
Фульвокислоти, оД/г	95	65	745	365
Гумінові кислоти, оД/г	90	110	680	600
Гумінові речовини (сума), оД/г	185	175	1425	965
БСК ₅ , мг O ₂ / дм ³	–	–	1750	530
P, %	0,40	6,60	43 мг/дм ³	33 мг/дм ³
K, %	1,10	1,50	115 мг/дм ³	120 мг/дм ³
Ca, %	0,70	0,70	70 мг/дм ³	30 мг/дм ³
Mg, %	1,30	1,30	130 мг/дм ³	105 мг/дм ³

Біологічні методи проведених досліджень полягають у визначенні токсичності (біотестування) та інших екологічних чинників. У роботі використано комплексні методики біотестування для виявлення гострої (летальної) або хронічної токсичності природних і техногенних вод із застосуванням як тест-об'єктів представників нижчих ракоподібних.

Біологічні методи проведених досліджень полягають у визначенні токсичності субстратів за допомогою біотестування. Біотестування є обов'язковим елементом системи оцінювання та контролю якості води. Метою біотестування є перевірка відповідності якості води нормативним вимогам.

Дослідження проводилися згідно з основною методикою короткочасного біотестування, за результатами якого робили висновок про наявність чи відсутність гострої токсичної дії досліджуваних проб води на тест-об'єкти.

Проби досліджуваної рідини відбирали з урахуванням вимог ISO 5667-2:1991 «Якість води. Відбирання проб. Частина 2. Настанови щодо відбирання проб» [87]. Власне процедуру біотестування проводили не пізніше шести годин після їх відбору. Перед біотестуванням проби фільтрували через фільтрувальний папір з порами розміром 3,5–10 мкм. У разі виявлення наявності гострої токсичної дії проби тестували без розбавлень. Для контролю (вода без токсичних речовин) використовували водопровідну воду, яку дехлорували з відстоюванням та аеруванням за допомогою мікрокомпресора протягом семи діб.

Процедура гідротоксикологічного аналізу проводилася відповідно до обов'язкової методики короткочасного біотестування, за якою як тест-об'єкти використовуються типові гідробіонти, мешканці місцевих водних екосистем, представники класу *Crustaceae* (дафнії або церіодафнії). Зокрема у цих дослідженнях тест-об'єктом слугувала лабораторна культура ракоподібних *Daphnia magna* Straus (ряд *Cladocera*), що є типовим мезосапробом і витримує засолення до 6 ‰ та пониження концентрації кисню у воді до 2 мг/дм³.

Для виявлення наявності гострої токсичної дії води на тест-об'єкти її проби тестують без розбавлень. Об'єм проби води без розбавлення для біотестування – 500 см³. Її розливали у десять дослідних посудин по 15 см³ у кожную (+ трикратна повторність досліду), інші посудини заповнювали таким самим об'ємом контрольної води (також дотримуючись трикратної повторності). У кожную з дослідних і контрольних посудин вміщували по одному екземпляру дафній. Їх переносили з посудин для культивування трубкою з обпиляним кінцем діаметром від 5 до 7 мм та експонували при оптимальних умовах протягом 24 годин. Під оптимальними умовами слід розуміти концентрацію кисню у воді не менш ніж 7 мг/дм³, температуру води 20 ± 2°C, освітленість 400–600 лк за тривалості світлового дня 12–14 годин. У разі короткочасного біотестування годування дафній припиняли.

Для дослідження видового складу планктону був застосований метод попередньої концентрації мікроорганізмів, що мешкають у товщі води, за допомогою планктонної сітки. Вона складається з латунного кільця і пришитого до нього конічного мішка з млинового капронового сита № 77, яке має 5929 отворів по 1 см². Вузький вихідний отвір конусоподібного мішка щільно прикріплюється до стаканчика, що має вивідну трубку, закриту зажимом Мора. Літровим ковшем черпали воду з поверхневого шару (до 15–20 см глибини) і виливали її у сітку, відфільтровуючи таким чином 50–100 дм³ води. Сконцентровану таким чином пробу планктону, що міститься у склянці планктонної сітки, зливають через вивідну трубку у попередньо приготовану чисту ємність. Для кількісного обліку фітопланктону проводився відбір проб певного об'єму. Для цього були використані сіткові збори з обов'язковим урахуванням кількості відфільтрованої через сітку води та об'єму зібраної проби.

Зібрані зразки досліджували як за допомогою світлового мікроскопа з використанням різних систем окулярів та об'єктивів з дотриманням звичайних правил мікроскопування, так і за допомогою електронного сканувального мікроскопа за відповідними методиками [88, 89].

Підрахунок чисельності мікрогідробіонтів здійснювався на спеціальних облікових камерах Горяєва, що застосовуються також для підрахунку формених елементів крові (розкреслених на смуги та квадрати). Користуючись цією камерою, покривне скельце ретельно притирали на бічні поверхні предметного облікового скла до появи кілець Н'ютона, а потім заповнювали камеру краплиною досліджуваної проби за допомогою піпетки. Залежно від кількості організмів у досліджуваній пробі прораховували або всі, або лише частину квадратів на поверхні облікового скла. Для більшої об'єктивності отриманих результатів проводили повторні підрахунки декількох (не менше трьох) крапель з тієї самої проби, кожен раз відбираючи піпеткою новий зразок для підрахунку після ретельного збовтування проби.

Методами біотестування визначено концентрації органічної суміші, за яких тест-об'єкти зазнають гострої токсичної дії (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 – Результати біотестування органічної суміші з використанням в якості тест-об'єктів (рачків виду *Daphnia magna*)

Тест-об'єкт – <i>Daphnia magna</i> Straus				
розбавлення	виживання, %			
	дигестат		субстрат	
	абс. число	%	абс. число	%
1:10	3	10,0	2	6,6
1:50	24	80,0	1	3,3
1:100	30	100,0	5	16,6
1:200	30	100,0	24	80,0
1:500	30	100,0	27	90,0
1:1000	30	100,0	27	90,0
контроль	30	100,0	30	100,0

Виявлення ступеня гострої токсичної дії тестованої води відбувається за національним стандартом «Якість води. Визначення гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (*Cladocera*, *Crustacea*)» ISO 6341:1996, MOD) ДСТУ 4173:2003. Для цього графічним методом розраховують: ЛКр₅₀ – 24 год. – кратність розбавлення тестованої води, за якої гине 50 % дафній за 24 години; ЛКр₀ – 24 год. – мінімальну кратність розбавлення, за якої дафнії не гинуть за 24 години.

На осі абсцис відкладають логарифми величин кратності розбавлень тестованої води, а на осі ординат – середні арифметичні величини

виживаємості дафній у відсотках до контролю. Отримані точки з'єднують прямою. Від точок на осі ординат, що відповідають 50 та 100 % виживаємості, проводять лінії, паралельні до осі абсцис. З точок перетину цих ліній з експериментальною прямою опускають перпендикуляри на вісь абсцис і знаходять логарифми величин кратності розбавлень, які відповідатимуть шуканим величинам $ЛКр_{50}$ і $ЛКр_0$. Чим більші величини $ЛКр_{50}$ і $ЛКр_0$, тим токсичніша тестована вода.

Ступінь токсичності можна також визначити, розрахувавши $ЛТ_{50}$ – середній час загибелі 50 % дафній у тестованій воді. Для цього будують графік (на осі абсцис відкладають час спостереження, на осі ординат – виживаємість у відсотках до контролю). Чим менше $ЛТ_{50}$, тим токсичніша тестована вода. Результати біотестування за цією методикою були зведені у відповідні протокольні таблиці (додаток А).

Оцінювання токсичності ґрунтів після застосування дигестату як біодобрива здійснювалося за допомогою «Ростового тесту». З кількох наявних варіантів: 1) пророщування рослин на зразках досліджуваних субстратів; 2) поливання рослин у пісковій або ґрунтовій культурі досліджуваними рідинами; 3) водна культура рослин на витяжках із ґрунтів, відходів, стічних вод тощо; був вибраний останній.

Як тест-культури використано різні рослини: пшениця, жито, ячмінь, овес, кукурудза, капуста, редис, гірчиця та ін. Для дослідження проб ґрунту до кожної з експериментальних ємностей вносили по 100 г субстрату, зволоженого до 70 %, і висівали по 15–20 пророслих насінин тест-культури. У даному випадку індикатором може бути будь-яка рослина. Дослідження всіх варіантів проведено не менше, ніж у трьох повторюваностях.

Неодмінною умовою експерименту є підтримання постійної вологості досліджуваного ґрунту (на рівні 70 % від повної вологоємності ґрунту), що досягається так:

- перед закладкою досліду ґрунт просушують і зважують;
- підготовлений таким способом ґрунт звожують такою кількістю води, що дозволяє досягти 70 % вологості;

– зволожений таким способом ґрунт розносять в експериментальні ємності і визначають загальну вагу.

При дослідженні якості проб води і водних витяжок лабораторні склянки заповнюють досліджуваною водою (250–500 см³). На перші кілька діб ємності з досліджуваними зразками накривають склом. Два–три рази на добу скло знімають на 10–15 хвилин для провітрювання. На четверту добу ємності з висадженим у них насінням поміщають на полицю, де за можливості протягом 14 годин (із 6-00 до 20-00) підтримується постійне освітлення, і витримують у таких умовах іще два тижні, спостерігаючи за такими показниками:

- динаміка росту паростків (кожну добу);
- довжина надземної частини паростків та їх приріст (кожну добу);
- загальна кількість пророслих насінин (на кінець експерименту).

При цьому увагу варто звертати на морфологічні особливості рослин (раннє пожовтіння, особливості розвитку кореневої системи та ін.).

За два тижні молоді рослини обережно звільняють із ґрунту (чи води), обтрушують з них часточки ґрунту і трохи підсушують на фільтрувальному папері. Потім проводяться вимірювання кореневої та стеблової вегетативних систем, визначається волога маса паростків у кожному з трьох повторень, після чого рослини поміщають у паперові пакети і висушують у сушильній шафі за $t^{\circ}=70-90^{\circ}\text{C}$ до постійної маси, а потім визначають суху масу.

За кожним з досліджуваних варіантів обчислюють середню довжину надземної і кореневої систем $\bar{x} \pm m$, де m – помилка середнього арифметичного, яку визначають за формулою:

$$m = \sqrt{\frac{\sigma^2}{N}}, \quad (2.2)$$

де N – кількість результатів, σ^2 – дисперсія, яку визначають за формулою:

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x - \bar{x})^2}{N}, \quad (2.3)$$

Достовірність різниці середніх арифметичних (t) розраховують за критерієм Стюдента–Фішера:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}, \quad (2.4)$$

де \bar{x}_1 – середнє арифметичне значення показника в контролі; \bar{x}_2 – середнє арифметичне значення показника у варіанті; m_1 – помилка середнього арифметичного в контролі; m_2 – те саме у варіанті.

Фітотоксичний ефект визначають у відсотках щодо маси рослин, довжини кореневої або стеблової системи, кількості ушкоджених рослин або кількості сходів. Ураховуючи кількість рослинної маси, що утворилася, фітотоксичний ефект розраховують за формулою:

$$FE = (M_0 - M_x) / M_0 \times 100\%, \quad (2.5)$$

де M_0 – маса рослин у ємності з контрольним ґрунтом (водою); M_x – маса рослин у ємності з досліджуваним ґрунтом (водою).

Результати відповідних розрахунків наведені у відповідних звітних таблицях (2.3, 2.4) і графіках (рис. 2.3, 2.4).

Таблиця 2.3 – Схожість (%) пшениці при різних розведеннях відпрацьованого субстрату (біодобрива)

Розведення	1	2	3	Середнє
1	2	3	4	5
1:10	89	87	88	88,0
1:50	88	91	87	88,7
1:100	89	96	92	92,3
1:200	97	98	95	96,7
Контроль	98	99	98	98,3

Таблиця 2.4 – Схожість (%) гороху за різних розведень відпрацьованого субстрату (біодобрива)

Розведення	1	2	3	Середнє
1	2	3	4	5
1:10	78	86	79	81,0
1:50	83	91	90	88,0
1:100	94	93	95	94,0
1:200	88	86	87	87,0
Контроль	97	98	99	98,0

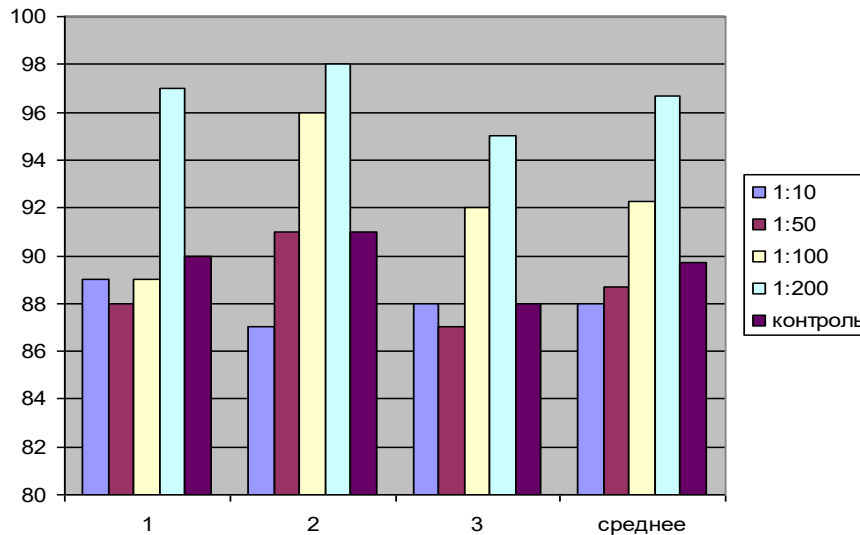


Рис. 2.3 – Схожість (%) пшениці за різних розведень дигестату

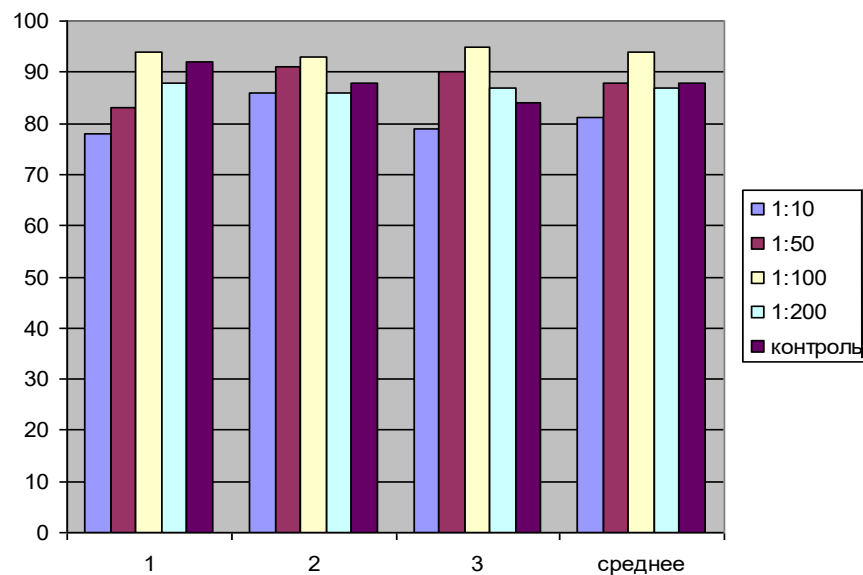


Рис. 2.4 – Схожість (%) гороху за різних розведень дигестату

Математичні методи. До математичних методів, що використовувалися під час досліджень, належать статистичні методи. Серед них були використані чисельні біометричні методи кількісного оцінювання об'єктів дослідження, оскільки біометрія є розділом варіаційної статистики, за допомогою методів якої здійснюють обробку експериментальних даних і спостережень, а також планування кількісних експериментів у біологічних дослідженнях. Під час виконання роботи найчастіше проводилося визначення абсолютного та відсоткового числа об'єктів (клітин, особин, таксонів різного рівня).

Під час дослідження кількісних проб гідробіонтів розрахунок чисельності організмів на 1 дм³ води здійснювали за формулою:

$$N = kn (A/a) v (1000/V), \quad (2.6)$$

де N – кількість організмів в 1 дм³ води досліджуваної водойми (культуральної рідини); k – коефіцієнт, що показує у скільки разів об'єм обчислювальної камери менший за 1 см³; n – кількість організмів, виявлених на розглянутих квадратах; A – кількість квадратів на обчислювальній камері; a – кількість квадратів, на яких відбувався підрахунок гідробіонтів; V – первісний об'єм відібраної проби (см³); v – об'єм згущеної проби (см³).

Розраховувалися прості коефіцієнти: K_t – трапляння особини, виду чи іншого таксону за формулою:

$$K_m = a/b \times 100 \%, \quad (2.7)$$

де a – число особин (видів), що аналізуються, b – загальна кількість усіх особин (видів); K_n – приросту клітин (особин) за формулою:

$$K_n = n_k(n_m)/n_0 \times 100\%, \quad (2.8)$$

де n_k – кількість клітин (особин) у контролі чи тесті (n_m) через встановлений проміжок часу, n_0 – вихідна кількість клітин (особин).

При біотестуванні проб природної води розраховували відсоток загиблених дафній у тестованій воді, порівняно з контролем, за формулою:

$$A = (x_k - x_m) \times 100/x_k, \quad (2.9)$$

де x_k – середня арифметична кількість дафній, що вижили в контролі, x_m – середня арифметична кількість дафній, що вижили в тестованій воді. Якщо $A \geq 50 \%$, тестована вода має гостру токсичну дію, якщо $A < 50 \%$, тестована вода не має гострої токсичної дії на дафній.

РОЗДІЛ 3

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ МЕТОДУ ПЕРЕРОБКИ

ОРГАНІЧНОЇ МАСИ ЦІАНОБАКТЕРІЙ

3.1 Біомаса ціанобактерій та інші біоенергетичні субстрати

Серед гідробіонтів – об’єктів наших досліджень – особливе місце посідають синьо-зелені водорості (*Cyanophyta*), або точніше ціанобактерії (*Oxyphotobacteriobionta*), що є найдавнішою групою автотрофних організмів, залишки яких виявлено в докембрійських строматолітах віком 2,7–3,2 млрд років. Будучи космополітами, ціанобактерії, незважаючи на незначну видову різноманітність (близько двох тис. видів), зустрічаються скрізь і всюди, оскільки їх адаптаційним можливостям (екологічній пластичності і резистентності), зумовленим їх стародавністю, майже немає меж [90]. Здатність засвоювати чотири гази: карбон (IV) оксид для фотосинтезу, Оксиген для дихання, сірководень для хемосинтезу й Нітроген для його фіксації, дозволяє одній початковій клітині за вегетаційний період (70–120 днів) породжувати 10^{20} дочірніх, і призводить до їх масового розвитку – «цвітіння» води.

Поза межне «цвітіння» води, домінуючими агентами якого в умовах дніпровських водосховищ є представники родів *Microcystis*, *Phormidium*, *Aphanizomenon*, *Anabeana* и *Oscillatoria* (рис. 3.1), слід розглядати як біологічний сигнал неблагополуччя в гідроекосистемах. Серед численних механічних, фізико-хімічних, біологічних і екологічних методів пригнічення масового розвитку ціанобактерій найбільш ефективними є останні два, оскільки вони дозволяють позбавитися причин, а не лише наслідків «цвітіння» води [91].

Ціанобактерії – значна група великих грамнегативних еубактерій, здатних до фотосинтезу, який супроводжується виділенням кисню. Ціанеї найбільш близькі до найдавніших мікроорганізмів, залишки яких виявлені на Землі. Єдині, поряд із прохлорофітами, бактерії, здатні до оксигенного

фотосинтезу, предки ціанобактерій розглядаються в теорії ендосимбіогенезу як найбільш імовірні предки хроматофорів червоних водоростей (прохлорофіти відповідно до цієї теорії мають загальних предків із хлоропластами інших водоростей і вищих рослин).

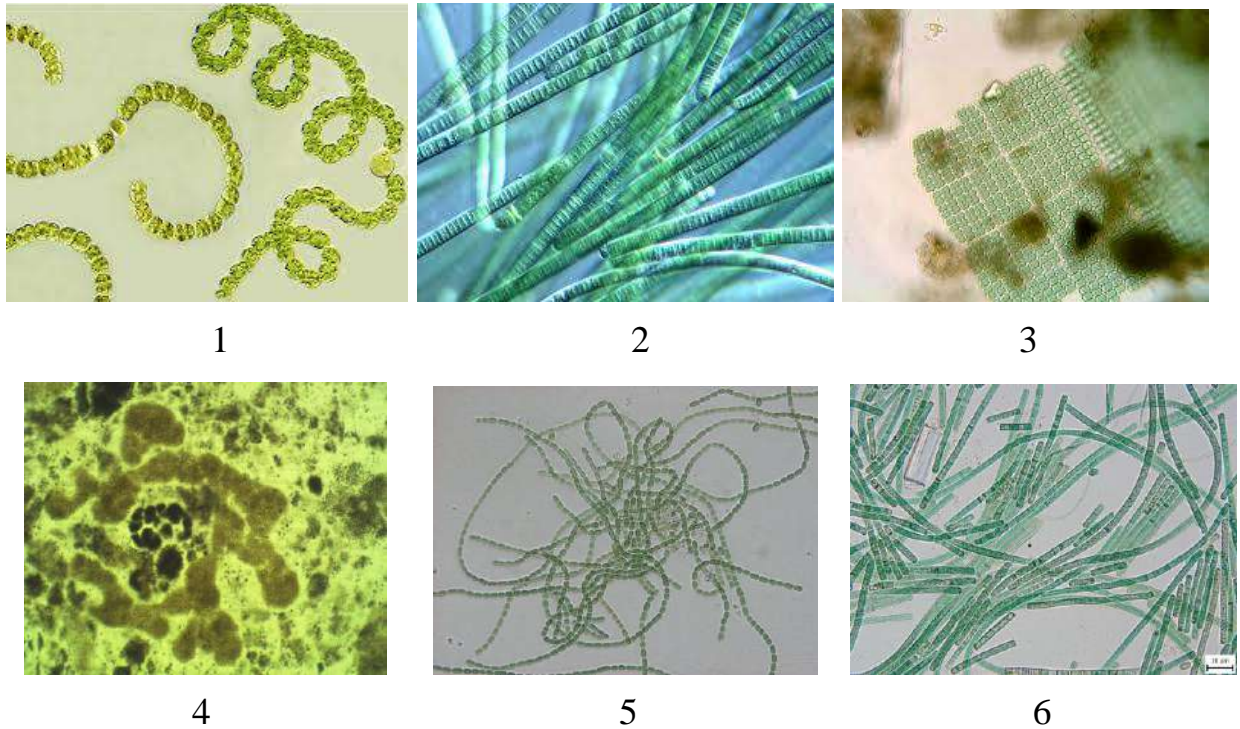


Рис. 3.1 – Збудники «цвітіння» води дніпровських водосховищ – *Anabaena* sp. (1), *Oscillatoria* sp. (2), *Merismopedia* sp. (3), *Microcystis* sp. (4), *Aphanizomenon* sp. (5), *Phormidium* sp. (6).

Порівняно великі розміри клітин і морфо-фізіологічна подібність з водоростями була причиною їхнього розгляду раніше в складі водоростей («синьо-зелені водорості», «ціанеї»). За цей час було альгологічно описано більше 1000 видів у майже 175 родах. Бактеріологічними методами на сьогодні підтверджено існування не більше 400 штамів. Біохімічна, молекулярно-генетична подібність ціанобактерій з іншими бактеріями на сьогодні підтверджена солідними доказами, однак дотепер деякі ботаніки, віддаючи данину традиції, схильні відносити ціанобактерії до водоростей.

Ціанобактерії – одноклітинні, нитчасті та колоніальні мікроорганізми. Середній розмір клітин – 2 мкм. Відрізняються видатною здатністю адаптувати склад фотосинтетичних пігментів до спектрального складу світла,

так що колір варіює від ясно-зеленого до темно-синього. Деякі вищі азотофіксувальні ціанобактерії (*Nostocales*) здатні до диференціювання – формування спеціалізованих клітин: гетероцист і гормогоніїв.

Морські та прісноводні СЗВ, що складають значну частину фітопланктону, ґрунтові види, учасники симбіозів (наприклад, у лишайників) здатні до формування товстих бактеріальних матів. Деякі види токсичні (найбільш вивчений токсин мікроцистин, що продукується, наприклад, *Microcystis aeruginosa*) та умовно-патогенні (*Anabaena sp.*). Головні учасники «цвітіння» води викликають масові замори риби й отруєння тварин і людей, наприклад, у водоймищах України. Унікальне екологічне положення зумовлене сполученням двох важкопоєднуваних здібностей: до фотосинтетичної продукції кисню та фіксації атмосферного Нітрогену (у 2/3 вивчених видів). Поділ бінарний в одній чи декількох площинах, множинний. Життєвий цикл в одноклітинних формах за оптимальних умов росту – від шести до дванадцяти годин.

Ціанобактерії мають повноцінний фотосинтетичний апарат, характерний для кисневидільних фотосинтетиків. До фотосинтетичного електронтранспортного ланцюга належить фотосистема (ФС) II, b_6f -цитохромний комплекс і ФС. Кінцевим акцептором електронів є ферредоксин, донором електронів – вода, що розщеплюється в системі окислювання води, аналогічно до вищих рослин. Світлозбиральні комплекси мають особливі пігменти – фікобіліни, зібрані (як і в червоних водоростей) у фікобілісоми. У разі відключення ФС–II здатні до використання інших, ніж вода, екзогенних донорів електронів: відновлених сполук Сульфуру, органічних речовин у рамках циклічного перенесення електронів за участю ФС–I. Однак ефективність такого шляху фотосинтезу невелика, і він використовується переважно для переживання несприятливих умов.

Ціанобактерії відрізняються надзвичайно розвиненою системою внутрішньоклітинних втягнень цитоплазматичної мембрани (ЦПМ) – тілакоїдів. Висловлено припущення про можливе існування в них системи

тілакоїдов, не зв'язаних із ЦПМ, що дотепер уважалося неможливим у прокаріот. Накопичена унаслідок фотосинтезу енергія використовується в темнових процесах фотосинтезу для виробництва органічних речовин з атмосферного CO₂.

Більшість ціанобактерій – облігатні фототрофи, які, однак, здатні до нетривалого існування через розщеплення накопиченого на світлі глікогену в окисному пентозофосфатному циклі й у процесі гліколізу, достатність якого для підтримки життєдіяльності піддається сумніву. Цикл трикарбонових кислот (ЦТК) не може брати участь в одержанні енергії через відсутність α -кетоглутаратдегідрогенази. «Розірваність» ЦТК зокрема призводить до того, що ціанобактерії відрізняються підвищеним рівнем експорту метаболітів у навколишнє середовище.

Азотфіксація забезпечується ферментом нітрогеназой, який відрізняється високою чутливістю до молекулярного кисню. Оскільки Оксиген виділяється унаслідок фотосинтезу, у еволюції ціанобактерій реалізовані дві стратегії: просторового та тимчасового роз'єднання цих процесів. У одноклітинних ціанобактерій пік фотосинтетичної активності спостерігається у світлий час доби, а пік нітрогеназної активності – у темний час доби. Процес регулюється генетично на рівні транскрипції; ціанобактерії є єдиними прокаріотами, у яких доведене існування циркадних ритмів (причому тривалість добового циклу може перевищувати тривалість життєвого циклу). У нитчастих ціанобактерій процес азотфіксації локалізований у спеціалізованих термінально диференційованих клітинах – гетероцистах, що відрізняються товстими покривами, які перешкоджають проникненню кисню. За нестачі зв'язаного Нітрогену в живильному середовищі колонії нараховується 5–15 % гетероцист. ФС-II у гетероцистах скорочена. Гетероцисти одержують органічні речовини від фотосинтезувальних членів колонії. Накопичений зв'язаний Нітроген накопичується в гранулах ціанофіцину чи експортується у вигляді глутамінової кислоти.

Систематика ціанобактерій розроблена недостатньо. Виділяють п'ять порядків: порядки *Chroococcales* і *Pleurocapsales* поєднують поодинокі чи колоніальні порівняно прості форми, до порядків *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigoneomatales* належать нитчасті високоорганізовані форми.

Ціанобактерії, за загальноприйнятою версією, стали «творцями» сучасної кисневмісної атмосфери на Землі (відповідно до іншої теорії, Оксиген атмосфери має геологічне походження), що призвело до першої глобальної екологічної катастрофи в природній історії та драматичній зміні біосфери. На сьогодні ціанобактерії, будучи значною складовою океанічного планктону, стоять на початку більшої частини харчових ланцюгів і виробляють більшу частину кисню (внесок визнається не всіма дослідниками). Ціанобактерія *Synechocystis* є першим фотосинтезуючим організмом організмом, геном якого був цілком розшифрований.

Серед інших субстратів, які традиційно використовуються для отримання біогазової суміші, слід насамперед назвати відходи сільського господарства (як тваринницької, так і рослинницької галузі), а також активний мул водоочисних споруд.

Активний мул – це суміш аеробних мікроорганізмів, які здатні сорбувати і окислювати забруднення стічних вод. Якість активного мулу залежить від виду і кількості органічних забруднень, наявності токсичних домішок, повноти попереднього відстоювання, тривалості та інтенсивності аерації, навантаження на активний мул [10].

Якісний активний мул здатний швидко і добре осідати. Така здатність оцінюється муловим індексом, який виражає об'єм активного мулу в кубічних сантиметрах (мілілітрах) після відстоювання протягом 30 хв відносно 1 г сухої речовини мулу. Муловий індекс за нормального стану активного мулу для міських стічних вод не перевищує 130 см³/г. Якщо його значення більше, то відстоювання мулової суміші у вторинних відстійниках відбувається повільно і спостерігається значний винос мулу [92].

До аеротенка повинен безперервно надходити Оксиген для забезпечення нормальної життєдіяльності мікроорганізмів. Для цього суміш стічних вод з активним мулом безперервно аерується системами аерації. Системи забезпечують подачу та розподіл кисню чи повітря в аеротенку і підтримують активний мул у завислому стані для кращого контакту мулу з поліюантами стічних вод.

Усі відомі людству метаболічні властивості мікроорганізмів фактично використані у різноманітній кількості реакторів біологічного очищення. Але включення у процеси очищення лише обмежених видів організмів, а саме – бактерій, грибів, найпростіших тощо далеко не завжди виявляється екологічно чистою та доцільною технологією. Окрім першочергового завдання – вилучення зі стічних вод основних забруднювальних компонентів, завжди виникає проблема утилізації утворених у процесі очищення побічних продуктів (осадів і надлишкової біомаси організмів – очисних агентів). В ідеалі активний мул можна було б уявити як біоценоз організмів, що певною мірою беруть участь у вилученні забруднень зі стічних вод. Причому, до такого ценозу мають належати всі можливі ланки – від мікроорганізмів до гідробіонтів з більш складною організацією [93]. Лише таким чином можливе відтворення процесів самоочищення природних водойм і надання обробленим стічним водам вищих кондицій якості. Представники фауни аеротенків, що беруть участь у біологічному очищенні води, зображені на рисунку 3.2.

У різних типах очисних споруд утворюються неоднакові фізико-хімічні умови, унаслідок чого в них розвиваються різні групи організмів [94]. Окрім фізіологічних груп, у бактеріальному складі активного мулу розрізняють екологічні групи, кожна з яких об'єднує мікроорганізми, що існують у певному температурному діапазоні і за певних концентрацій розчиненого кисню. В активному мулі розвиваються мікроорганізми усіх трьох температурних груп – психрофільні, мезофільні й термофільні, але домінують факультативні психрофіли та мезофіли. В умовах достатньої

концентрації кисню в активному мулі переважають аероби, однак поряд з ними поширені й факультативні анаероби. В активному мулі виявляються також і облигатні анаероби, існування яких можливе в мікронах з малим вмістом кисню чи повною його відсутністю. Такі мікронах можуть виникати всередині пластівців активного мулу, коли їх розмір і густина збільшуються. Зміна температурного і кисневого режимів в аеротенку призводить до зміни співвідношень між організмами різних екологічних груп [95–97].

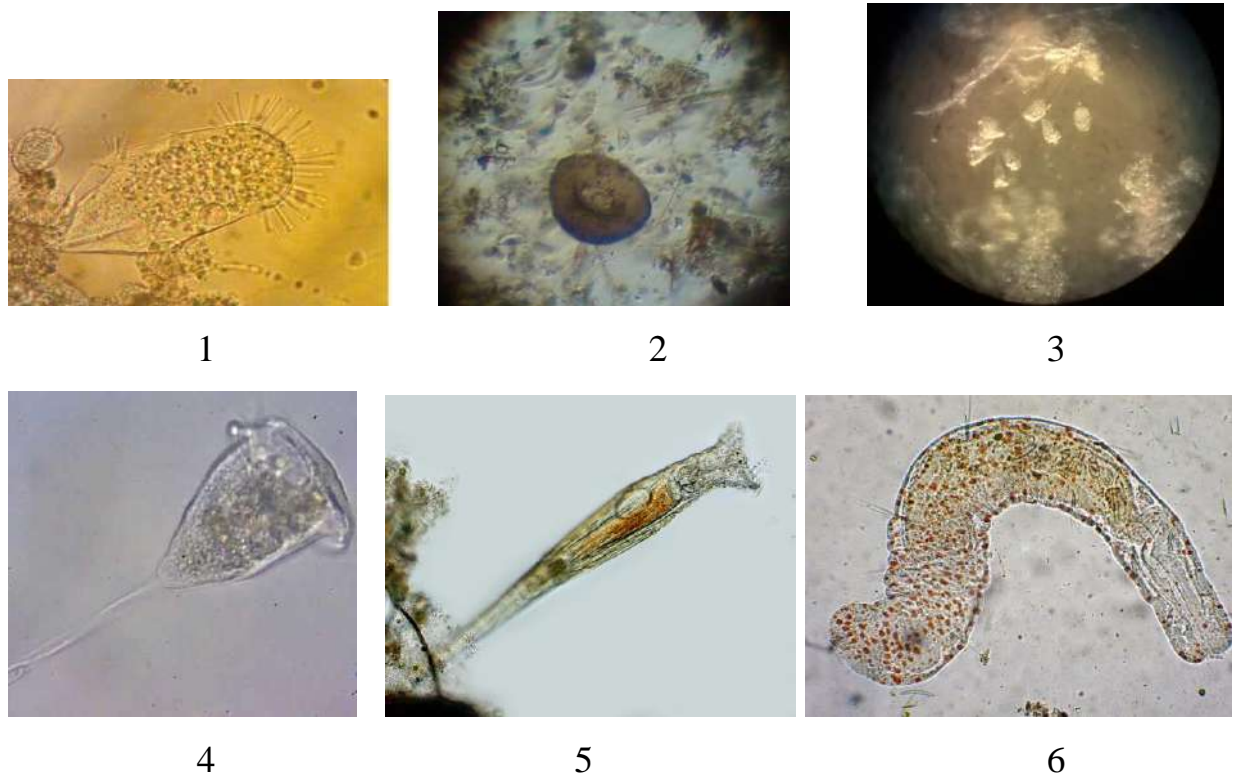


Рис. 3.2 – Гідробіонти, що забезпечують біологічне очищення стічних вод *Rhabdophrya trimorpha* (1), *Arcella vulgaris* (2), *Zoothamnium arbuscula* (3), *Vorticella campanula* (4), *Rotaria citrina* (5), *Aelosoma hemprii* (6).

Оскільки в аеротенку можуть інтенсивно розвиватися лише евтрибонтні організми, що пристосовані до циклічної зміни сапробних умов, пов'язаної з рециркуляцією активного мулу, екосистема цієї споруди характеризуватиметься майже повною відсутністю організмів з автотрофним типом живлення. Окрім того, розвитку фотосинтезуювальних водоростей перешкоджатиме нестача світла в товщі активного мулу через високу концентрацію останнього.

На підставі аналізу літературних джерел [98–103] можна констатувати, що склад стічних вод може значною мірою варіювати залежно від специфіки промислових об'єктів, сировини та особливостей виробництва. Так, стічні води підприємств молочної промисловості сприятливі для розвитку не тільки бактерій, а й дріжджів, нижчих грибів тощо. Основними забрудненнями досліджуваних стоків є компоненти рідких побутових відходів, що містять білки, жири, вуглеводи, вітаміни, мікроелементи тощо. Сучасна технологія очищення зумовлює потрапляння у стічні води сторонніх домішок через особливості технологічних процесів. Водночас енергетична цінність деяких продуктів та осадів, утворених унаслідок очищення побутових і промислових стічних вод, може бути використана для виробництва біопалива II генерації у складі мультисубстрату.

3.2 Математичне моделювання біологічної продуктивності ціанобактерій

Докорінні зміни у видовому складі мікрофлори та мезофауни ріки призвели до заміщення багатьох автохтонних видів гідробіонтів адвентивними видами. У цілому спостерігається чітка тенденція до спрощення дніпровської гідроекосистеми і скорочення кількості видів, що, безсумнівно, робить її більш уразливою для зовнішніх стресових чинників.

З концентрацією водоростей близько 1 г/м^3 уже спостерігається помітне забарвлення води, що відповідає кольору ціанобактерій. Зазвичай максимальна концентрація їх у поверхневому шарі води відкритих ділянок Кременчуцького водосховища сягає $1,5\text{--}2,0 \text{ кг/м}^3$. Іще більша концентрація біомаси ціаней зафіксована в місцях згонів біля навітряних берегів, у бухтах, затоках – до $5\text{--}7 \text{ кг/м}^3$, маса сестону може доходити до $35\text{--}40 \text{ кг/м}^3$ [104]. Тому необхідний аналіз впливу екологічних чинників на процес продукції СЗВ у водоймах і розробка основних засад щодо створення математичної моделі біологічної продуктивності фітопланктону гідроекосистеми в умовах інтенсивної евтрофікації.

На сьогодні відомо близько 40 видів токсигенних ціанобактерій, у тому числі представники родів *Microcystis* Kützinger, *Anabaena* Bory de Saint-Vincent ex Bornet & Flahault, *Nodularia* Mertens, *Nostoc* Vaucher ex Bornet & Flahault, *Aphanizomenon* Kützinger, *Oscillatoria* Vaucher & Gomont, *Cylindrospermopsis* Seenayya & Subbaraju. Однак головним акумулятором органічної речовини в період «цвітіння» Дніпра є представник фотосинтезувальних ціанобактерій – *Microcystis aeruginosa* Kützinger. Саме на нього припадає до 90 % біомаси в плямах «цвітіння» – місцях найбільшого скупчення клітин ціаней у водоймі. Найчіткіше вплив екологічних чинників на продукційний процес водойм простежується на прикладі водосховищ як своєрідних замкнених гідроекосистем.

У водосховищах спостерігається вплив швидкості течії на біомасу та видовий склад фітопланктону. Зі зменшенням швидкості течії від верхньої частини до греблі відбувається зміна домінант серед фітопланктону від діатомових у річковій частині до хлорококкових у середній і СЗВ у пригреблевій частині. Характер гідродинаміки водних мас у незарегульованих річках вважають основним чинником, що стримує розвиток ціанобактерій [105].

Установлено, що збільшення швидкості течії призводить до зростання первинної продукції у окремих видів водоростей і до зменшення чисельності ціанобактерій як у натурних, так і в лабораторних умовах. Збільшення чисельності *Microcystis aeruginosa* Kützinger корелює не стільки зі швидкістю, скільки з гідромеханічним станом течії – турбулентністю. Діапазон значень турбулентності (числа Рейнольдса) $Re = 2,1-3,6 \cdot 10^4$ має стимулювальну, а $Re = 5,0-5,5 \cdot 10^4$ – інгібувальну дію на розвиток і розмноження клітин водоростей.

За ламінарного плину швидкість метаболізму в клітині лімітована інтенсивністю молекулярної дифузії біогенів до клітини, а за умов турбулентного перебігу збільшується швидкість обміну речовин навколо клітини, що створює оптимальні умови для її живлення. Безпосередній вплив

турбулентності полягає в зміні колоїдного стану протоплазми клітин. Руйнування агрегатів міцел сприяє збільшенню швидкості метаболізму в клітині, а, отже, її росту.

Утворені під впливом вітру турбулентні течії призводять до перемішування поверхневих шарів води. Це найбільш важливо для функціонування фітопланктону, оскільки вони викликають розсіювання клітин водоростей у перемішуваному шарі, глибина якого залежить від сили вітру [105]. Якщо вітер слабкий, неглибоке перемішування стримує осідання водоростей в освітленому поверхневому шарі, у разі посилення вітру клітини водоростей занурюються в більш глибокі шари, де можуть відчувати світлове голодування. У період «цвітіння» води вітрове перемішування призводить до розосередження їх поверхневих скупчень, що утворюються при штильовій погоді, до підвищення прозорості та збільшення товщини фотичного шару.

В умовах штилю у водоймах, схильних до «цвітіння», скупчення ціанобактерій виявлено в приповерхневому шарі на глибині 0,25–3,00 м, що знижує освітленість для інших видів, які мешкають у товщі води. У деяких водосховищах вітрове перемішування водних шарів вважають основною причиною припинення «цвітіння». У модельних і натурних дослідженнях було визначено критичну швидкість вітру, за якої відбувається перемішування плаваючих ціанобактерій, – 2–3 м/с. Після шторму ціанобактерії концентруються в глибинних шарах.

Емпірично встановлено зв'язок між біомасою ціанобактерій у поверхні зі швидкістю вітру [101]:

$$B_w = B_0 (0,89 - 0,12W), \quad (3.1)$$

де B_w – біомаса водоростей (г/м³); W – швидкість вітру на висоті 2 м (м/с).

Особливо важливо відстежувати розподіл ціанобактерій у період «цвітіння», оскільки вони впливають на якість вод і життєдіяльність інших гідробіонтів. У поєднанні з освітленістю і вмістом біогенних речовин товщина перемішаного шару визначає біомасу та первинну продукцію фітопланктону.

Товщина перемішуваного шару (епілімніон) залежить від ступеня стратифікації та інтенсивності вітрового впливу. Але розростання водоростей обмежено фотичною зоною, глибина якої визначається каламутністю води і кількістю проникаючої сонячної радіації і зазвичай не збігається з товщиною епілімніону [103]. У високопродуктивних водоймах зазвичай велика біомаса підтримується тільки в тонкому шарі:

$$z_e < z_m, \quad (3.2)$$

де z_e і z_m – відповідно товщина фотичного та перемішуваного шарів. Співвідношення z_e/z_m важливе для водоростей, оскільки визначає величину відносин продукції (P) і деструкції (D).

Унаслідок порівняння величин z_e/z_m і P/D встановлено, що оптимальне відношення P/D досягається у діатомових водоростей з відношенням $z_e/z_m = 0,15-0,20$, а у зелених – від 0,5 до 1,0. Зі збільшенням товщини перемішуваного шару збільшується тривалість послідовних флуктуацій світла, що може впливати на фотосинтез фітопланктону. Якщо товщина евфотичної зони менша за глибину, до якої поширюється турбулентність і вертикальна циркуляція, винесення клітин за межі зони фотосинтезу призводитиме до зменшення об'єму фітопланктону [103]. Уважають, що ціанобактерії домінують у водоймах з дещо завищеним рН і незначним утворенням CO_2 завдяки здатності використовувати такі концентрації CO_2 , за яких у інших водоростей припиняється фотосинтез.

Наприклад, для *Anabaena* Bory de Saint-Vincent ex Bornet & Flahault оптимальна величина рН становить 7–8, для *Aphanizomenon* Kützinger – 8,10–8,45, для *Microcystis* Kützinger – 9–10 [80]. Проте у природних умовах ці дані не завжди підтверджуються. Дослідження впливу Карбон IV оксиду на ціанобактерії показало, що мала концентрація CO_2 не є чинником ініціювання «цвітіння». Навпаки – ціанобактерії, поглинаючи CO_2 , створюють несприятливі умови для інших водоростей унаслідок підлуження середовища. Адже в лужному середовищі підвищується частка HCO_3^- , а для низки ціаней, зокрема для представників родів *Microcystis* і *Anabaena*,

показана здатність засвоювати як джерело Карбону переважно йони HCO_3^- унаслідок утворення CO_2 завдяки дегідратаційній активності карбоангідрази. Тим не менш, на сьогодні відомо, що в еукаріотичних клітинах мікроводоростей активність карбоангідрази значно більша, ніж у клітинах СЗВ. Можливий також опосередкований вплив CO_2 на ціанобактерії через зміну рН, результатом якого може бути зміна розчинності металів, форм фосфату, активності ферментів СЗВ [97].

Уважають, що у разі нестачі світла ціанеї можуть споживати екзогенні органічні речовини, тому високі концентрації легкоокислюваних сполук також відносять до чинників, сприятливих для їх розвитку. Існує думка, що фітопланктон може навіть створювати конкуренцію бактеріопланктону в споживанні легкозасвоюваних розчинних органічних речовин.

Гідробіологічні спостереження підтверджують, що інтенсивний розвиток водоростей найчастіше відбувається у водоймах, збагачених органічними речовинами. Різноманіття проявів їх впливу на різні аспекти життєдіяльності водоростей (зростання, розмноження, накопичення біомаси, інтенсивність фотосинтезу, синтез білка, освітлення та утримання пігментів і морфогенез) указує, що їхні функції не обмежуються лише трофічним чинником.

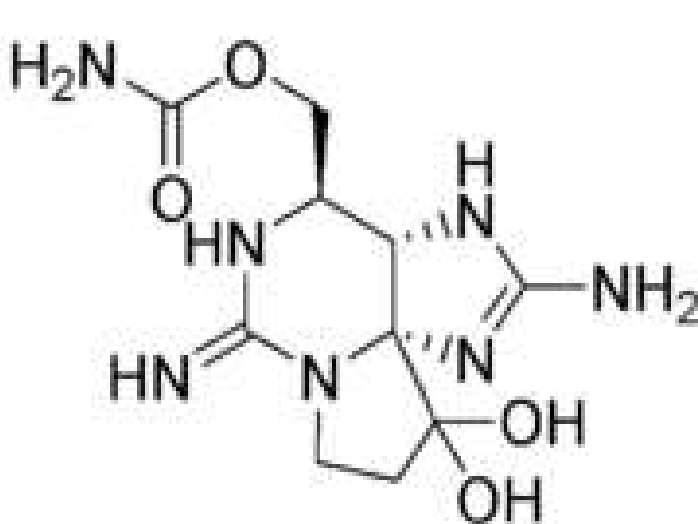
Існує гіпотеза, що діатомові і зелені водорості, що передують у водоймі розвитку синьо-зелених, продукують органічні сполуки, водночас, покращуючи трофічні умови у водоймі для розвитку останніх. Окрім того, існує припущення, що наявність гумінових речовин у водоймі гальмує розвиток СЗВ.

У Кременчуцькому та Кам'янському водосховищах у слизових утвореннях ціаней, а також на їх гетероцистах мешкають бактерії-супутники, біомаса яких зазвичай становить 10 % від загальної біомаси бактерій, але інколи може досягати 50–60 %. Фактично кожна колонія ціанобактерій є угрупованням авто- і гетеротрофних мікроорганізмів. Супутні бактерії постачають до 17 % CO_2 і за допомогою каталази руйнують пероксид

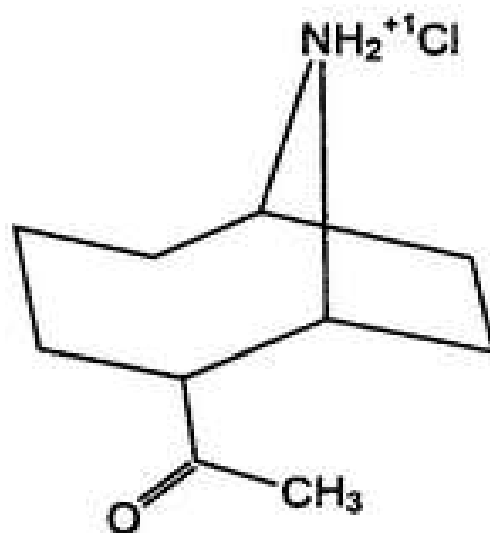
Гідрогену, який накопичується в процесі росту СЗВ. Вони також синтезують і виділяють у середовище вітаміни групи В.

Показано, що за наявності супутніх мікроорганізмів у культурах СЗВ більш інтенсивно перебігає гідроліз сечовини. Мікроорганізми, що мешкають у колоніальному слизу бентосних колоній *Microcystis* Kützinger, у процесі метаболізму можуть зв'язувати Фосфор донних відкладень і екскретувати його, роблячи доступним для водоростей. Окрім того, вони можуть змінювати фізико-хімічні умови всередині седиментів, стимулюючи також вивільнення Фосфору. Відомо, що у бактерій-супутників інтенсивність метаболізму більша [106, 107].

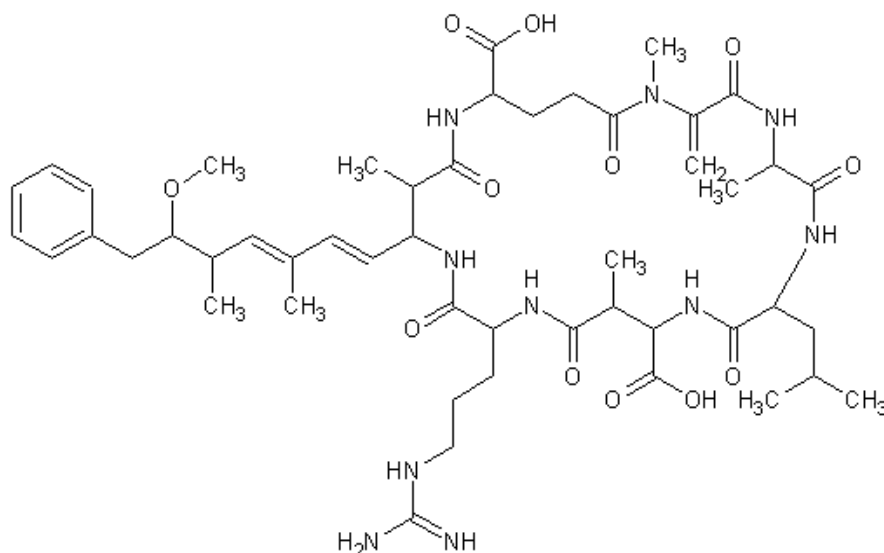
СЗВ здатні продукувати також нейротоксини (анатоксини, саксітоксин) (рис. 3.3), гепатотоксин (мікроцистин і нодулярін) і циліндроспермопсин, що формує хронічну токсичність природних вод [103]. Токсини виявлені в 70 % водойм, що «цвітуть» по всьому світу. Дані про токсичність тих чи інших видів здебільшого суперечливі, що, можливо, пов'язано з впливом на продукцію токсинів фізіологічного стану клітин, фази зростання і різних зовнішніх умов.



Саксітоксин



Анатоксин



Мікроцистин

Рис. 3.3 – Основні токсини синьо-зелених водоростей

Припускається, що СЗВ виділяють токсини для захисту від поїдання їх зоопланктоном. Однак в експерименті *Daphnia* O. F. Müller з однаковою швидкістю поглинала колонії дикого (токсичного) штаму *Microcystis* Kützing і мутантного штаму, що не виробляє мікроцистин. Інша можлива дія токсинів – пригнічення росту водоростей-конкурентів.

Дослідження вказують на досить високу концентрацію мікроцистину в дніпровській воді протягом літніх місяців, що однак не перевищує гранично допустимих значень і безпосередньо не загрожує здоров'ю людини (рис. 3.4).

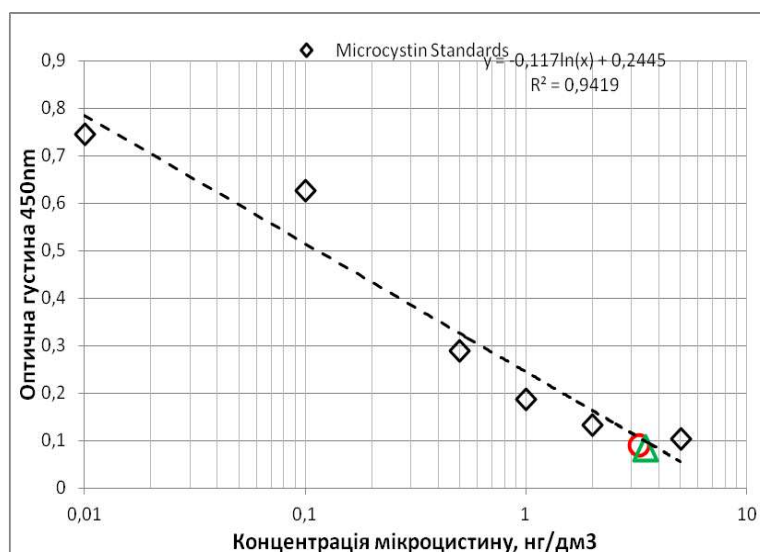


Рис. 3.4 – Концентрація мікроцистину в пробах дніпровської води

Узимку *Microcystis* Kützing складається з поодиноких живих клітин, які оточені безліччю мертвих, укладених у товстостінну оболонку – так звану обгортку. Їх кількість збільшується до осені. Вони переважно концентруються на поверхні розділу вода–мулові відкладення, а активна вегетація *Microcystis* Kützing починається з весняним прогріванням води до 10–15°C [103]. Жива клітина починає ділитися, використовуючи продукти розкладання мертвих клітин. Коли цей ресурс повністю утилізований, клітина осмотично поглинає з навколишнього середовища поживні речовини, а потім спливає в товщу води. Інші автори вважають, що *Microcystis* Kützing зимує на дні у вигляді вегетативних колоній. Існують дані про зимівлю й інших видів СЗВ на дні у вигляді вегетативних клітин, що було виявлено у *Microcystis aeruginosa* Kützing, *Aphanizomenon flos-aquae* Linnaeus Ralfs ex Bornet & Flahault і різних видів роду *Anabaena* Bory de Saint-Vincent ex Bornet & Flahault [108].

Проте, за даними Сіренко Л. А. [34], під час зимівлі колонії *Aphanizomenon* Kützing руйнуються дуже швидко. Уважають, що періодичне опускання на дно (період «спокою») – це закономірне, фізіологічно зумовлене явище. Узимку, навіть за ідентичних сприятливих умов, культури або різко уповільнюють зростання, або взагалі не ростуть, концентруючись на дні, і не фотосинтезують. Це дає підставу припускати, що розмноження *Microcystis* Kützing контролюється не лише екологічними, а й генетичними чинниками. Максимальний відсоток тих колоній, що вижили, спостерігається в мулі. У травні водорості піднімаються з дна і їх чисельність у придонному шарі збільшується.

Підняття водоростей починається ще під льодом, і в місцях масового скупчення відбувається не одночасно, а окремими партіями, що, імовірно, пов'язано з різною підготовленістю окремих колоній до зимового спокою. На акваторії водосховища спливання відбувається одночасно. На мілководдях підняття відбувається швидше, а біля гребель цей процес довготривалий, але рівень «цвітіння» там такий самий через велику масу водоростей. Клітини

зберігають здатність до поділу і фотосинтетичний апарат з мінімальними змінами, перебудова процесів метаболізму з переходом у планктон здійснюється досить швидко. Активний розподіл колоній СЗВ відбувається в товщі води, що пояснює деякий розрив у часі спливання колоній і початку «цвітіння».

У зв'язку з періодичною зміною рівня води у водосховищах Дніпра значна кількість ціаней залишається на березі, висихаючи без води з утворенням щільних кірок. Навесні їх плівки, зволожені талими водами, покриваються молодими колоніями *Microcystis* Kützinger і слугують однією з причин раннього весняного «цвітіння» мілководних заток і замкнених водойм. Окрім того, сухі колонії можуть переноситися на великі відстані і відновлювати життєдіяльність з попаданням до інших водойм [103].

Під час досліджень було встановлено, що біомаса, яка відбиралася безпосередньо з плям «цвітіння», на 95 % складається з фітомаси виду *Microcystis aeruginosa* Kützinger. Ці дані візуально підтверджуються під час центрифугування концентрованої органічної речовини з плям «цвітіння» протягом 40 хв (рис. 3.5).



Рис. 3.5 – Біомаса ціаней після центрифугування

Під час мікроскопування був визначений середній діаметр клітин цього виду ціанобактерій, який склав 3,14 мкм. Отримані результати мікроскопування дозволили визначити, що 95–99 % біомаси припадає на

СЗВ. Об'єм середньостатистичної клітини *Microcystis aeruginosa* Kützinger, що має кулясту форму, дорівнює близько 15 мкм^3 , а її маса – 15 мкг. Результати мікроскопування зразків показали чисельність у них клітин понад 1 млн/см^3 [109].

Отже, в умовах Кременчуцького та Кам'янського водосховищ маса *Microcystis aeruginosa* Kützinger становить $4,14 \cdot 10^7$ т за вегетаційний період, що в перерахунку на суху вагу може сягати $0,8 \cdot 10^6$ т органічної речовини, у тому числі від 8,05 до 10,76 тис. т чистих ліпідів.

Загалом, продукційний процес є унікальним явищем, у якому тісно переплітаються взаємодія природних і антропогенних чинників. Відповідно до сучасних уявлень, продуктивність екосистеми визначається процесами енерго- і масообміну між біотичною компонентою і навколишнім середовищем. В евтрофованій водоймі СЗВ розглядаються як центральна ланка системи «абіотичне середовище–біотична компонента» і моделюються як біохімічна система, що засвоює з навколишнього середовища енергію та необхідні субстрати і продукує органічні речовини [110].

Відповідна цьому продукційному процесу математична модель має дві складові – пов'язані між собою рівняння [103]: 1) модель фізичної складової біопродуктивності, яка описує процеси перенесення речовини й енергії у водному середовищі; 2) модель біологічної складової біопродуктивності, яка описує визначальні процеси асиміляції та дисиміляції вуглекислоти СЗВ, динаміку біомаси. Перша система рівнянь задає умови роботи фотосинтезувальної системи, а друга – описує динаміку продуктивності біологічної системи.

Отже, в основу математичної моделі покладено динамічний підхід для розв'язання важливого завдання гідроекології та екологічної біотехнології – вивчення причинно-наслідкових зв'язків між екологічними умовами і продуктивністю фітопланктону. Імітаційні моделі продукційного процесу реалізовано на комп'ютері як динамічні балансові структури блокового типу [111]. Блокова структура моделі відображає скоріше особливості її реалізації

на ЕОМ, ніж сутність процесів, що відбуваються в гідроекосистемі. Уся сукупність процесів поділяється на групи, у яких зв'язки всередині групи є тіснішими, ніж міжгрупові. Події в моделі мають часову спрямованість. При цьому слід ураховувати дискретно-безперервний характер природних явищ у водоймі. Так, процеси, які відбуваються з фітопланктоном у водоймі протягом теплого літнього сезону, зазвичай, безперервні у часі. Водночас можна визначити низку «критичних точок» у холодну пору року, у яких ця безперервність порушується, або, принаймні, змінюється.

Отже, кінцева біомаса СЗВ є результатом сукупності складних і взаємозалежних процесів, у водному середовищі. При цьому різні процеси перебігають зі швидкостями, які відрізняються одна від одної на два і більше порядки. Найшвидші процеси – це теплоперенесення та дифузія CO_2 , що відбуваються протягом секунд.

Інша група процесів із «середнім» темпом має постійний час – приблизно декілька годин. Це, наприклад, час появи нової генерації клітин унаслідок мітозу. А, нарощування біомаси, динаміка сапробності водойми спостерігається протягом декількох діб і належить до групи повільних процесів. Тому в основу опису динаміки продуктивності покладено інтегрування рівнянь «середньої» групи, що моделюють процеси протягом кожної доби із «замороженими» параметрами, які описують зміну сапробності водойми.

Для моделювання динаміки біосистем використовують два типи моделей – емпіричні і функціональні [112]. Головне завдання емпіричних моделей – описати, запропонувати аналітичне наближення до експериментальних даних. Такий опис корисний у багатьох ситуаціях, проте він не містить інформації більше, ніж та, що була отримана під час досліду, тоді як функціональне моделювання, засноване на уявленнях про способи функціонування об'єкта та пов'язане зі спробою дати пояснення описуваному біооб'єкту. Опис поведінки підсистеми рівня $i-1$ може бути чисто емпіричним, тобто не містити жодного елемента, який належить до

підсистеми рівня і-2, а може бути змішаним – емпірико-функціональним, отже, може містити в собі параметри, властиві підсистемам рівня і-2 і нижче. Емпірична модель майже вільна від обмежень, тоді як можливості функціональної моделі (навіть якщо вона містить добре регульовані параметри) лімітуються покладеними в її основу припущеннями [113].

У динамічних моделях значення змінних є функціями часу. Це змінні стану, змінні швидкості, допоміжні змінні та змінні керування. Під час моделювання динамічних систем повний набір рівнів кожного блоку має назву його стану, оскільки цей набір вичерпно характеризує чисельні значення всіх змінних блоку в даний момент часу. Упорядкована певним чином сукупність станів усіх блоків утворює вектор стану моделі в цілому. Якщо модель містить x блоків, то цей вектор на момент часу tk має вигляд:

$$x(k) = \begin{pmatrix} x^I(k) \\ \vdots \\ x^m(k) \end{pmatrix} \quad (3.3)$$

Зокрема, на момент початку розрахунку, тобто з $t = t_0$, значення всіх складових вектора x_0 становлять початковий стан моделі. Він повинен бути заданий перед початком апробації моделі. Для цього необхідно задати такі масиви даних: а) вектор параметрів моделі, що характеризує певне водне середовище, означену культуру ціаней; б) вектор початкового стану; в) набір екологічних чинників, що визначають реалізацію умов продукційного процесу; г) набір констант, які визначають регулювання фізичних і хімічних параметрів водного об'єкта [100].

Продукційний процес – це сукупність окремих взаємопов'язаних процесів, фундаментальними серед яких є фотосинтез, дихання і мітоз, під час яких відбувається нарощування біомаси фітопланктону. Продукційний процес залежить від умов зовнішнього середовища і сам перетворює довкілля унаслідок таких фундаментальних біологічних процесів:

1) фотосинтез – унаслідок поглинання CO_2 під впливом сонячної радіації ціаней утворюють органічну речовину у вигляді асимілянтів. Залежно від інтенсивності інсоляції, гідродинамічного та температурного режимів

водного об'єкта, концентрації CO_2 у середовищі, видових особливостей ціаней тощо процес фотосинтезу може відбуватися з більшою або меншою швидкістю;

2) дихання – забезпечує енергією різні біохімічні процеси синтезу, пов'язані з ростом, транспортом речовин, побудовою нових структурних елементів ціаней, а також з підтримкою їх життєдіяльності;

3) мітоз – нестатевий поділ клітин, що забезпечує збільшення біомаси, тобто продукційний процес.

Найелементарніший показник збільшення біомаси фітопланктону – це приріст за певний проміжок часу:

$$M = M_2 - M_1 \quad (3.4)$$

Приріст сухої фітомаси не є вичерпною характеристикою для оцінювання росту, оскільки не враховує хімічний склад фітомаси. Приріст сухої маси відбувається за певний інтервал часу, тому вживаються поняття абсолютної швидкості росту:

$$\Delta M / \Delta t = (M_2 - M_1) / (t_2 - t_1), \quad (3.5)$$

відносного приросту:

$$R_r = (M_2 - M_1) / \overline{M} \cdot (t_2 - t_1), \quad (3.6)$$

де \overline{M} – середня суха маса за період часу $t_2 - t_1$.

Згідно з роботами Тоомінга Х. Г. [45], найвища продуктивність може бути досягнута за таких умов: формується оптимальний фотосинтетичний апарат; досягається найкраща за інтенсивністю і за якісною спрямованістю його робота; забезпечується найкраще використання продуктів фотосинтезу з найменшими їх витратами на процеси загального метаболізму і росту; ці процеси підтримуються оптимальним співвідношенням чинників середовища: світла, тепла, вуглекислого газу та елементів мінерального живлення.

Передумовою для створення математичної моделі продукційного процесу є знання закономірностей залежності вищезазваних фундаментальних процесів від чинників зовнішнього середовища і від

внутрішніх біологічних, видових та адаптивних особливостей ціаней у взаємозв'язку і в динаміці онтогенезу. Розглянемо процес накопичення загальної біомаси фітопланктону на одиницю об'єму водного середовища:

$$dM/d\tau = k(\tau, \overline{v_p}, \overline{X_q}), \quad (3.7)$$

де M – суха біомаса фітопланктону; k – швидкість накопичення біомаси; τ – час; $\overline{v_p}$ – вектор біологічних властивостей фітопланктону, що мають вплив на швидкість накопичення біомаси; $\overline{X_q}$ – вектор чинників зовнішнього середовища, що впливає на швидкість накопичення біомаси [68].

Поряд із процесом накопичення біомаси в популяції СЗВ, частина біомаси відмирає і тому не може бути врахована для вимірювання сухої біомаси у будь-який момент часу. Для балансу сухої ваги біомаси фітопланктону на одиницю об'єму водного середовища в момент часу $(\tau + \Delta\tau)$ може бути записана у вигляді:

$$M(\tau + \Delta\tau) = M(\tau) + \Delta\mu - \Delta\Omega, \quad (3.8)$$

де $\Delta\mu$ – суха вага біомаси, що сформувалася за час $\Delta\tau$; $\Delta\Omega$ – суха вага відмерлої біомаси за час $\Delta\tau$.

Приріст нової біомаси відбувається переважно унаслідок фотохімічних процесів у хроматофорах, що містять пігментний апарат, і супроводжується поглинанням вуглекислоти із середовища. При цьому швидкість проходження процесу фотосинтезу істотно залежить від площі фотосинтезувальної поверхні та умов зовнішнього середовища, у яких відбувається процес, тобто:

$$\Delta\mu = m [L_{(\tau)}, X_{q(\tau)}] \Delta\tau, \quad (3.9)$$

де m – приріст сухої біомаси за одиницю часу; $L_{(\tau)}$ – площа поверхні фотосинтезувального апарата за будь-який момент часу τ .

Відмерлу біомасу зручно виразити у вигляді добутку деякої функції ω – відносної швидкості відмирання – на суху вагу біомаси. ω – це функція часу і залежить від віку організму та умов зовнішнього середовища. Функція ω визначається експериментально і є стабільною для кожного виду. Тому:

$$\Delta\Omega = \omega M \Delta\tau, \omega = (\Delta\Omega/\Delta\tau)M^{-1}, \quad (3.10)$$

Отже, суха вага біомаси дорівнює:

$$M(\tau + \Delta\tau) = M(\tau) + \{m[L_{(\tau)}, \overline{x_q}(\tau)] - \omega[(\tau), \overline{x_q}(\tau)] M(\tau)\} \Delta\tau. \quad (3.11)$$

Відповідно до сучасних уявлень, дихання має дві складові: дихання росту і дихання підтримки структурної біомаси, причому, перше залежить від інтенсивності фотосинтезу, а друге пов'язане з біомасою організму. Отже, величина добового приросту біомаси складає [68]:

$$m = \varepsilon(\Phi' - R_1') - R_2', \quad (3.12)$$

де m – добовий приріст біомаси на одиницю об'єму водного середовища унаслідок фотосинтезу; Φ' – добова величина істинного фотосинтезу на одиницю об'єму водного середовища; R_1' – добова величина дихання росту на одиницю об'єму водного середовища; R_2' – добова величина дихання підтримки на одиницю об'єму водного середовища; ε – коефіцієнт, що показує, скільки одиниць сухої речовини може бути отримано з вагової одиниці CO_2 , засвоєної фітопланктоном (теоретично приймається $\varepsilon = 0,67$).

Інтенсивність видимого фотосинтезу виражають залежністю:

$$F = \Phi - R = (1 - c_1) \Phi, \quad (3.13)$$

де Φ – інтенсивність істинного фотосинтезу одиниці площі поверхні фотосинтезуючого апарата; R – інтенсивність дихання росту одиниці площі поверхні фотосинтезуючого апарата, $R = c_1\Phi$; c_1 – коефіцієнт дихання росту.

Апроксимація функції, що описує зв'язок інтенсивності видимого фотосинтезу з інтенсивністю фотосинтетично активної радіації, що потрапляє на фотосинтетичний апарат, має вигляд:

$$F_a = kbQ/k + bQ, \quad (3.14)$$

де F_a – фотосинтетично активна радіація; k – максимально можлива інтенсивність фотосинтезу з $Q \rightarrow \infty$; b – квантовий вихід, тобто кількість квантів світла, необхідного для асиміляції однієї молекули CO_2 .

Добова величина видимого фотосинтезу дорівнює:

$$F_{\text{доб.}} = \int_{i^{\Theta_c}}^{i^{\Theta_3}} F' d\Theta, \quad (3.15)$$

де F' – миттєве значення видимого фотосинтезу на одиницю об'єму водного середовища; Θ – часовий кут Сонця; $i^{\Theta_3} \cdot i^{\Theta_c}$ – відповідно момент сходу і заходу Сонця.

Як було зазначено, унаслідок процесу фотосинтезу утворюється органічна речовина, насамперед у вигляді вуглеводів. Фонд вільних вуглеводів на кожному часовому кроці продукційного процесу являє собою баланс продуктів фотосинтезу і продуктів розпаду клітин (як результат перенесення стресу або старіння), а також витрат на дихання:

$$dC_{\text{lab}}/dt = \Phi_0 + C_{\text{hydr}} - R_0, \quad (3.16)$$

де C_{lab} – фонд вільних вуглеводів; Φ_0 – маса продуктів фотосинтезу; C_{hydr} – маса вуглеводів, що утворюються під час розпаду речовини клітин; R_0 – витрати вуглеводів на дихання; t – час.

Витрати на дихання росту та підтримання життя моделюються з використанням концепції Мак-Крі [114] і з урахуванням зміни інтенсивності дихання в онтогенезі та під впливом температури середовища:

$$dR/dt = \alpha_R [C_G(dm/dt) + C_m m \varphi_R], \quad (3.17)$$

де C_G – коефіцієнт витрат на дихання росту; C_m – коефіцієнт витрат на дихання підтримки; α_R – онтогенетична крива дихання; dm/dt – приріст біомаси фітопланктону; m – маса фітопланктону; φ_R – температурна крива дихання.

Отже, на сьогодні моделювання продукційних процесів гідроекосистем є важливою складовою прикладного аспекту – упровадження природоохоронних технологій щодо врегулювання евтрофікації водойм. У цілому розробка технологічних рішень щодо зниження продуктивності водних об'єктів є надзвичайно актуальним завданням екологічної біотехнології.

РОЗДІЛ 4

УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЙ ПЕРЕРОБКИ ЦІАНОБАКТЕРІЙ НА ЦІЛЬОВІ ПРОДУКТИ

4.1 Біотехнологія виробництва метану та біодобрива

Запропоновано векторну схему технологічного процесу переробки органічної речовини гідробіонтів (рис. 4.1).

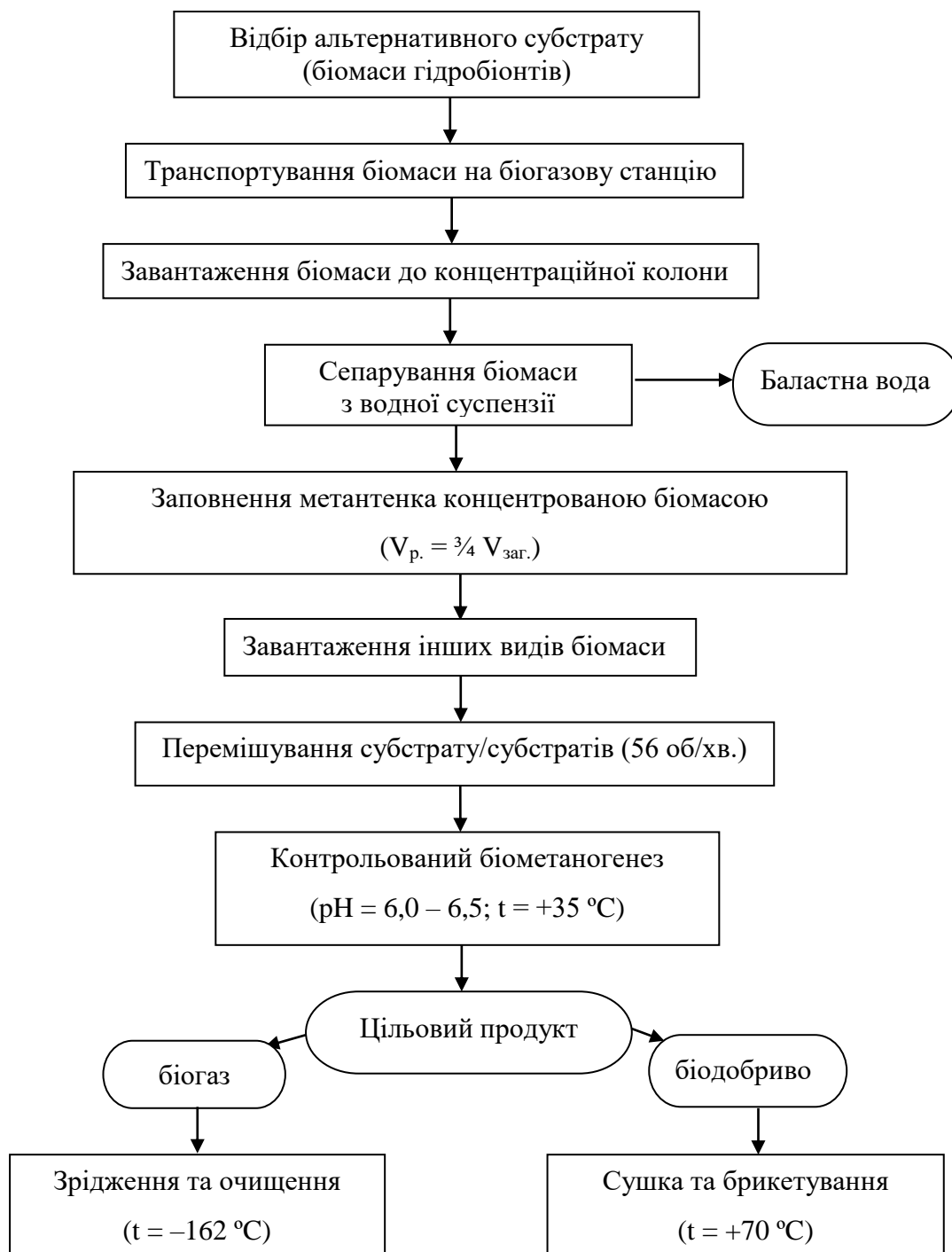


Рис. 4.1 – Векторна схема технологічного процесу біомодифікації органічного субстрату в цільовий продукт

Розроблена екологічна біотехнологія виробництва біогазу і біодобрива включає збір концентрованої біомаси синьо-зелених водоростей з акваторії водосховищ дніпровського каскаду під час їх «цвітіння» для сепарації відстоюванням у концентраційній колоні та подальшого використання біомаси як субстрату в технології отримання біогазу шляхом метаногенезу в анаеробній камері дайджестеру зі збиранням газу у газгольдер. Дигестат (відпрацьований субстрат) може у наступному бути підданий сушці, брикетуванню або фасуванню у рідкому стані. До 10 % від маси дигестату доцільно залишати в дайджестері задля інокуляції нового субстрата та прискорення процесу біометаногенезу на 10 – 25 %.

Дослідження загального хімічного складу речовин, що є цільовими продуктами запропонованої біотехнології, а також механізм їх отримання, в першу чергу біогазової суміші, що утворюється під час деструкції органічної речовини різних субстратів та подальшого контрольованого процесу метаногенного бродіння дозволили отримати дані, що наведено у таблицях 4.1 та 4.2. Основним компонентом біогазу є метан у кількості, що дає змогу використовувати його для задоволення господарчих потреб у побуті і на промислових підприємствах.

В ході досліджень було визначено фізичні та хімічні властивості отриманих зразків біогазу, та здійснено порівняльний аналіз відповідних газових проб, добутих із різних органічних субстратів. Приблизний склад біогазу, що утворюється в результаті розкладу органічної речовини гідробіонтів (на основі біомаси активного мулу): метан – від 40 % до 70 %, двооксид вуглецю – від 30 % до 45 %, Нітроген, сірководень, Гідроген та інші гази – від 5 %: до 10 %. Теплотворна здатність біогазу – від 18 МДж/м³ до 25 МДж/м³. Межі вибухонебезпечності суміші біогазу з повітрям – від 4 % до 12 %.

Таблиця 4.1 Хімічний склад біогазу, утвореного із активного мулу

CH ₄	CO ₂	Інші гази (N ₂ , H ₂ S, H ₂ та ін.)
55,0 %	37,5 %	7,5 %

Таблиця 4.2 Хімічний склад біогазу (%), утвореного із ціанобактерій

№	CH ₄ +H ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO	H ₂ S	Інші
1	70,10	20,05	8,15	0,36	0,15	0,04	1,15
2	72,00	19,07	7,05	0,49	0,22	—	1,17
3	71,75	20,77	6,75	0,73	—	—	—
4	71,90	20,00	7,23	0,43	0,22	—	0,22
5	70,14	22,04	7,34	0,34	0,11	0,03	—
6	71,15	21,05	7,30	0,33	0,12	—	0,05
7	73,09	20,14	6,13	—	0,54	—	0,10
8	72,05	19,05	7,02	0,03	0,02	0,09	1,74
9	70,30	21,05	7,25	0,80	0,60	—	—
10	71,11	20,01	6,30	0,55	—	—	2,03
11	73,00	19,11	5,98	0,30	0,29	—	1,32
12	71,15	20,05	5,41	0,18	0,10	—	3,11
13	71,56	20,28	6,02	0,42	0,16	—	1,56
14	71,74	19,95	7,31	0,59	0,27	—	0,14
15	70,25	20,21	5,47	0,85	0,15	0,07	3,00
16	72,77	19,18	6,12	0,27	0,13	—	1,53
17	70,26	21,09	6,54	0,21	0,23	—	1,67
18	72,05	19,54	7,00	0,48	0,25	—	0,68
19	69,78	22,87	5,97	0,35	—	—	1,03
20	67,99	24,14	6,18	0,30	0,18	—	1,21
21	72,54	19,91	5,11	0,41	0,09	—	1,94
22	70,97	20,10	7,00	0,43	0,11	—	1,39
23	73,25	18,88	5,01	0,55	—	—	2,31
24	72,14	19,14	6,05	0,61	0,21	—	1,85
25	70,23	21,13	5,55	0,40	0,24	0,05	2,40
Σ серед.	71,33	20,35	6,45	0,42	0,18	0,01	1,26

У якості приводу перемішувача застосовано мотор-редуктор планетарний двоступеневий 3МП(1МПз2)-31,5-56-1,1-G110-ПУЗ. Мотор-редуктори такого типу застосовуються для зменшення частоти обертання і передачі крутного моменту механізмам загальномашинобудівного призначення, виключаючи механізми для підйому вантажу. Умови застосування обраного мотор-редуктора:

- навантаження постійне і змінне (в межах номінального крутного моменту), одного напрямку і реверсивне;
- режим роботи – тривалий, 8 – 24 год/добу;
- висота над рівнем моря – до 1000 м;
- зовнішнє середовище – неагресивне, не вибухонебезпечне, з вмістом непровідного пилу до 10 мг/м³;
- кліматичне виконання У (N) – помірний клімат, категорія розміщення 3 – експлуатація в приміщеннях, де коливання температури і вологості повітря істотно менше, ніж на відкритому повітрі, робоча температура навколишнього середовища від –45°C до +40°C.

Мотор-редуктор оснащений загальнопромисловим трифазним асинхронним електродвигуном АИР71В2, що має категорію розміщення 3 (експлуатація у закритих приміщеннях без регулювання кліматичних умов) та ступінь захисту IP54 (пилозахисний, захист від бризок, що падають у будь-якому напрямку). Технічні характеристики мотор-редуктора 3МП(1МПз2)-31,5-56-1,1-G110-ПУЗ наведено у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3 – Технічні характеристики мотор-редуктора 3МП(1МПз2)-31,5-56-1,1-G110-ПУЗ

Номінальна частота обертання вихідного валу, хв ⁻¹		56
Номінальний крутний момент на вихідному валу, Н·м		180
Комплектуючий електродвигун	Марка	АИР71В2
	Потужність, кВт	1,1
Допустиме радіально-консольне навантаження на вихідному валу, Н		3300
ККД редукторної частини, %		97
Маса редуктора частини, кг (не більше)		19

Контрольований метаногенез відбувається у метантенку в мезофільному температурному режимі ($t = +35\text{ }^{\circ}\text{C}$) та у слабнокислому середовищі, чий показник рН наближається до нейтрального (6,0–6,5).

У випадку, коли отриманий біогаз передбачається використовувати не в місці його безпосереднього синтезу, доцільне його зрідження за температури -162°C , при цьому відбувається фракціонування газової суміші з подальшим отриманням чистого метану. Об'єм зрідженого метану може зменшуватися у 600 разів, що суттєво полегшує його транспортування у значних обсягах.

Отримуване з відпрацьованого дигестату біодобриво, може бути піддане висушуванню за допомогою конвекційної стрічкової сушарки. Температура повітря та сила його подачі через вентилятори може регулюватися відповідно до потреб господарства та умов оточуючого середовища. Кінцевою ланкою технологічного процесу є брикетування та фасування готового сухого добрива у відповідну тару.

Для отримання біогазу у лабораторії використовується наступне обладнання:

1 Концентраційна колона, що експлуатується у складі лабораторного устаткування, містить воду з органічною речовиною та є цілком безпечною для навколишнього середовища. Утворення біогазу та інших летких речовин у порожнині колони не передбачається.

2 Дайджестер, що експлуатується у складі лабораторного оснащення, є цілком герметичним, його бічні кришки оснащуються гумовими ущільнювачами. Вихід біогазу через допоміжні патрубки унеможливлений наявністю у дайджестері рідини (субстрату). Верхній патрубок, через який здійснюється подача біогазу до газгольдера, оснащується герметичним трьохходовим термостатичним розподільним клапаном.

3 Перемішування рідини (субстрату) у дайджестері здійснюється за рахунок електроприводу, що оснащується загальнопромисловим трифазним асинхронним електродвигуном третьої категорії розміщення (експлуатація у

2 Відстояна чиста вода зливається доти, доки порожнина концентраційної колони не буде заповнена лише біомасою, після чого концентраційна колона може бути додатково заповнена новою порцією біомаси із подальшою повторною сепарацією. Після злиття чистої води сепарована біомаса через шланг-рукав ГР-50 (внутрішній діаметр 51 мм) потрапляє до дайджестеру. Перетікання біомаси зумовлено різницею висот над рівнем ґрунту дна концентраційної колони, встановленої на підставці, та дайджестера і передбачає заповнення останнього на 2/3 об'єму.

3 У анаеробній камері дайджестеру отримана біомаса СЗВ використовується як субстрат для метаногенезу. Дайджестер являє собою герметичний лопатевий перемішувач, де субстрат піддається періодичному короткочасному перемішуванню з частотою 56 об/хв. Камера дайджестеру оснащена додатковими приладами спостереження, що дозволяє безперервно та безпечно відстежувати основні фізико-хімічні показники субстрату та вести візуальний моніторинг його стану.

4 Вивільнений з дайджестеру біогаз потрапляє за рахунок власного тиску до змінної камери високого тиску або до газгольдера. Його об'єм контролюється за допомогою газового лічильника.

5 Залишки дігестату вивільнюються з дайджестеру з можливим наступним їх використанням як сировини для подальшої переробки або у готовому вигляді.

Концентраційна колона (рисунок 4.3) являє собою циліндричну ємність висотою 2480 мм з днищем діаметру 930 мм, виготовлену з аустенітної неіржавної сталі Х18Н10Т товщиною 10 мм.

Дайджестер (рис. 4.4) являє собою розташовану горизонтально циліндричну ємність висотою 2480 мм з днищем діаметру 930 мм, виготовлену із застосуванням того ж матеріалу та способів зварних з'єднань, що і концентраційна колона.

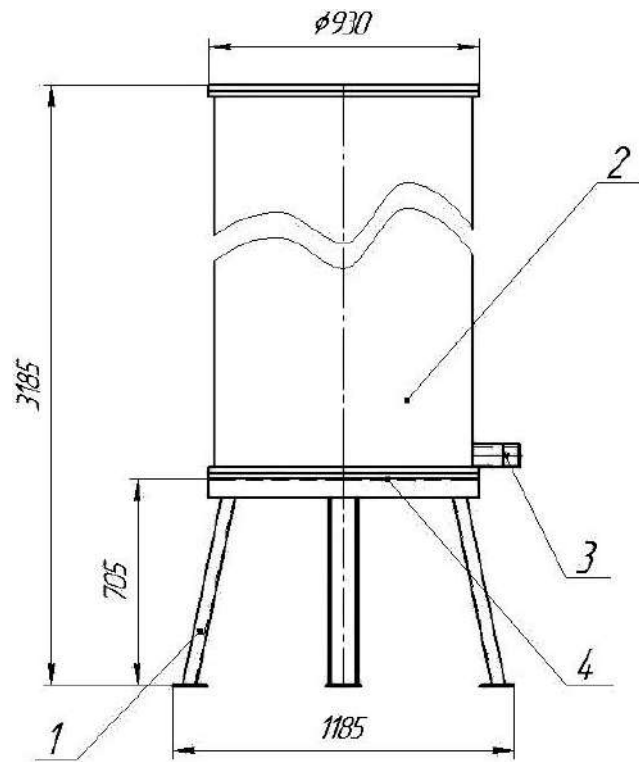


Рис. 4.3 – Робочий ескіз концентраційної колони з підставкою:
1 – підставка зварна зі швелера № 10, 2 – ємність, 3 – злив G 1½", 4 – днище

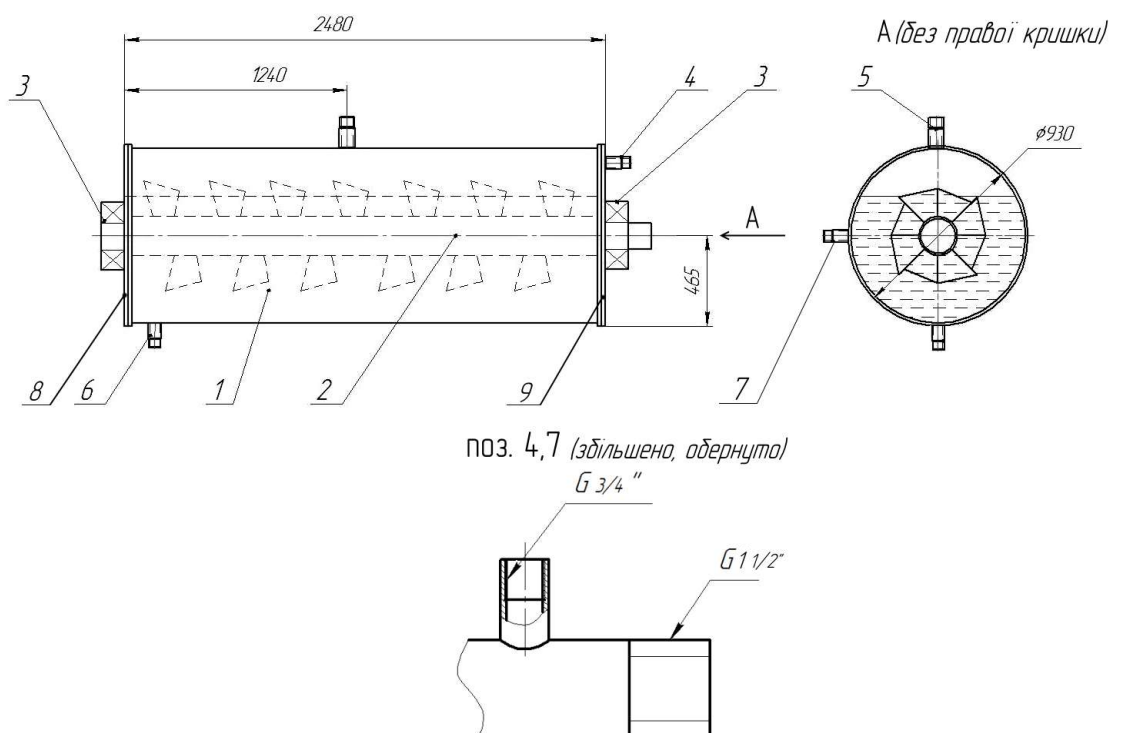


Рис. 4.4– Робочий ескіз дайджестера: 1 – ємність, 2 – вал з лопатями,
3 – підшипниковий вузол (підшипник № 209), 4,7 – патрубок-двійник G 1½"-
G ¾", 5 – патрубок 1/2", 6 – злив G 1½", 8,9 – кришка

Кришки поз. 8 та 9 виготовлені з алюмінієвого сплаву 2024 (Aluminium alloy 2024, вітчизняний аналог – дюралюміній Д16 ГОСТ 4784–97 [116]). Даний штучно зістарений алюмінієвий сплав здобув широке поширення серед деформівних легких сплавів у приладобудуванні та машинобудуванні як такий, що володіє найбільш сприятливим комплексом фізико-механічних властивостей, відрізняється істотно більшою міцністю, ніж чистий алюміній.

Загальний вигляд дайджестера у зборі без встановленого аналізатора води показано на рисунку 4.5.

Передача біомаси СЗВ відбувається за рахунок різності висот концентраційної колони, встановленої на підставці, та дайджестера, що встановлюється у лабораторії або безпосередньо на підлозі з фіксаторами, що попереджують кочення («башмаками»), або на підставках висотою не більше 20 см. Зливний кульовий повнопрохідний клапан на концентраційній колоні відкривається повністю, або частково (регуляція тиску напору біомаси, що надходить).



Рис.4.5– Загальний вигляд дайджестера на дерев'яних підставках

Контроль за рівнем біомаси у дайджестері здійснюється або візуально через бічний патрубок G 3/4” патрубка-двійника дайджестера при загерметизованому патрубку G1½”, або за допомогою приладу візуального спостереження (ендоскопу). Як прилад відеоспостереження у дайджестері застосовується технічний водонепроникний гнучкий ендоскоп (бороскоп) для

інспекції труб, загальний вигляд якого та характеристики наведені на рисунку 4.6 та у таблиці 4.4.

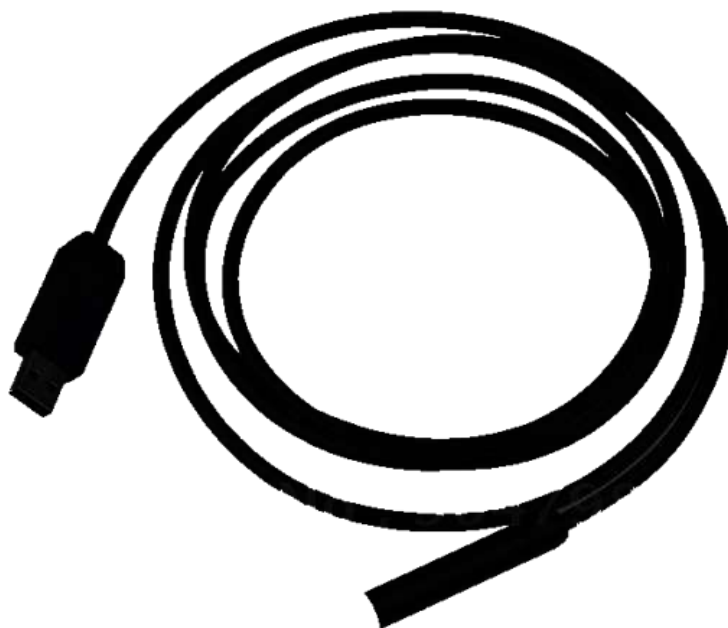


Рис. 4.6. Водонепроникний гнучкий ендоскоп (бороскоп) для інспекції труб

Таблиця 4.4 – Загальні характеристики технічного ендоскопа

Водонепроникний рівень	IP67
Глибина занурення, м	≤ 1
Діаметр камери, мм	10
Тип камери	CMOS
Роздільність матриці камери, МПікс	3
Формат зображення	VGA / QVGA
Роздільність зображення, точок	640×480
Частота кадрів, кадр/с	30
Кількість світлодіодів для освітлення зони спостереження	4 (регульовані)
Інтерфейс USB	USB 2.0
Довжина кабелю, м	15

Контроль за параметрами технологічного процесу перетворення СЗВ на біогаз (рН, Е, t°C) у дайджестері здійснюється за допомогою аналізатора ТЕННО 18-14. Зонд аналізатора має виносний кабель та оснащується зовнішньою різьбою G 3/4", завдяки якій встановлюється вертикально у відгалуження патрубків поз. 7 дайджестера. Ця серія приладів є способом

тестування і точним інструментом контролю рівня рН. Має вбудований мікрокомп'ютер для точного визначення рівня рН, температурний дисплей, датчик тиску і т.д.

Дані, що знаходяться у пам'яті приладу зберігаються деякий час навіть при відключенні приладу від живлення. Особливістю даної серії є те, що вона може використовувати контролер онлайн-корекції. Основними функціями приладу є відображення на дисплеї, вищої і нижчої точки ввімкнення/вимкнення, вищого і нижчого значення рівня сигналізації, пам'ять за останні 30 днів, 4–20 мА вихід, RS485 вихід. Електрод (зонд) має автоматичну температурну компенсацію. Технічні характеристики аналізатора наведено у таблиці 4.5.

Контроль тиску утвореного біогазу здійснюється при закритому кульовому крані VT.218.N.04 1/2" на патрубку дайджестера здійснюється за допомогою манометра ДМ 050630–100 ГОСТ 2405–88 [117], який встановлюється у відгалуження трійника Lexline 1/2" (матеріал – латунь).

Таблиця 4.5 – Технічні характеристики аналізатора ТЕННО 18-14

Діапазон вимірів, рН	0,00 – 14,00	
Роздільність, рН (клас)	0,01 (0,05)	
Стабілізація, рН/доба	≤ 0,03	
Діапазон регулювання калібрування, рН	нуль ±1,45	
Стандартні розчини, рН	Україна/ЄС	США/Велика Британія
	6,86; 4,01; 9,18	4,00; 7,00; 10,01
Діапазон налаштування, рН	0 – 14	

Усі різьбові з'єднання у системі герметизуються за допомогою фторопластового ущільнювача (ФУМ-стрічки) згідно з ВСН–20–67 [118]. Основне призначення фторопластового ущільнювача полягає в герметизації різьбових, ніпельних і фланцевих з'єднань в технологічних трубопроводах, мережах холодного та гарячого водопостачання та різних інженерних системах, що працюють під тиском, що не перевищує 9,8 МПа. Перевагою такого ущільнювача є його добрі експлуатаційні характеристики, серед яких

можна виділити пластичність, нетоксичність, високу міцність, хімічну і термічну стійкість, а також високі антикорозійні якості. Крім того, він має досить широкий діапазон умов для експлуатації – тиск, що за певних умовах може сягати 41,2 МПа і робоча температура від -60 до $+200^{\circ}\text{C}$.

Згідно з викладеного, устаткування й обладнання лабораторії екологічної біотехнології відповідає сучасним вимогам ДСТУ, ДБН та ДНАОП України, є безпечним в експлуатації з точки зору пожежної та електричної можливості іскроутворення, не потребує додаткових заходів при обладнанні примусової вентиляції та встановлення додаткового устаткування.

Розроблені ТУ, що поширюються на «Біогаз із органічної речовини гідробіонтів», установлюють його кількісні та якісні характеристики. Вони мають бути досягнуті з метою ефективного використання біогазової суміші у когенераційних установках з одержанням електричної та теплової енергії або безпосередньо у побутових чи промислових потребах.

Цей стандарт не поширюється на вимоги до технологічного обладнання, що застосовується під час вилучення біогазу та його використання у когенераційних установках. Спосіб отримання біогазу описаний у патенті № 104743 України (опубл. 10.02.2016, Бюл. № 3, 2016 р.) (Додаток Б).

Зазначені ТУ містять посилання на нормативні документи, що зазначені у додатку В.

У розроблених ТУ використано терміни, установлені Законом України «Про відходи» [119]. Нижче додатково наведено короткий перелік термінів і визначення позначених ними понять.

Анаеробний процес розкладання органічної речовини – розкладання органічної речовини, з якої складається біомаса гідробіонтів, без доступу кисню різними видами бактерій з утворенням біогазу.

Біогаз – суміш газів, що утворюється під час анаеробного розкладання органічної речовини, з якої складається біомаса гідробіонтів.

Метаногенез – етап процесу утворення біогазу з органічної речовини, на якому відбувається продукування мікроорганізмами метану – основного компоненту біогазової суміші.

Органічна речовина, з якої складається біомаса гідробіонтів – органічна частина, що зазнає біологічного розкладання (біомаса ціанобактерій, рештки вищої водної рослинності тощо).

Дані ТУ містять такі загальні положення:

Відбір органічної речовини, призначеної для переробки на біогаз, може здійснюватися з поверхні як природних, так і штучних водойм, зокрема ставків і водосховищ.

Встановлено склад біогазу, що утворюється внаслідок розкладання органічної речовини гідробіонтів (на основі біомаси ціанобактерій): метан – від 40 % до 70 %, двооксид вуглецю – від 30 % до 45 %, Нітроген, сірководень, Гідроген та інші гази – від 5 % до 10 %. Теплотворна здатність біогазу – від 18 МДж/м³ до 25 МДж/м³. Межі вибухонебезпечності суміші біогазу з повітрям – від 4 % до 12 %.

Кількість біогазу, що утворюється в процесі розкладання органічної речовини визначають згідно з ДБН В.2.4-2 [120].

Прогнозування кількості біогазу, що утворюється, виконують з урахуванням складу і властивостей сировини, її свіжості, місця відбору, умов та терміну зберігання, рН водної витяжки з субстрату.

Біогаз використовують як паливо для когенераційних установок.

Система вилучення та знешкодження біогазу призначена для:

- вилучення та збирання біогазу;
- використання біогазу у когенераційній установці з виробленням електричної та теплової енергії чи для безпосереднього спалювання;
- зниження негативного впливу органічної речовини, що зазнає розпаду, на довкілля;
- забезпечення автономного режиму енерго- і теплопостачання споруд приватних та комунальних господарств.

З 1 м³ біогазу можливо одержати (1,6–2) кВт-год електроенергії та (1,6–2,85) кВт-год рекуперованої теплової енергії у разі його використання у когенераційній установці.

Надлишок енергії, що може утворюватися у разі вилучення максимального можливого об'єму біогазу та задоволення власних енергетичних потреб господарства, може постачатись стороннім споживачам відповідно до вимог [120 – 124].

До ТУ входить також технологічна схема збирання та використання біогазу, отриманого із органічної речовини гідробіонтів. Вимоги до її проектування наведено у ТУ «Концентратор-дайджестер для утилізації біомаси ціанобактерій».

Згідно до ТУ, біогаз, отриманий із органічної речовини гідробіонтів, має відповідати вимогам щодо тиску, теплоти згоряння, відносної вологості, мінімального вмісту метану та інших речовин (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 – Технічні вимоги до біогазової суміші

Параметр	Одиниця вимірювання	Значення
Тиск газу	кПа	Від 1,5 до 100
Мінімальний вміст метану	%	від 55 до 65
Теплотворна здатність	МДж/кг ккал/кг	Не менше ніж 5500 Не менше ніж 23,01
Теплота згоряння	кВт-год/нм ³	Не менше ніж 5
Вміст Хлору (Cl)	мг/нм ³ CH ₄	Не більше ніж 100
Вміст Фтору (F)	мг/нм ³ CH ₄	Не більше ніж 50
Сумарний вміст Хлору і Фтору	мг/нм ³ CH ₄	Не більше ніж 100
Вміст Силіцію	мг/нм ³ CH ₄	Не більше ніж 5
Вміст Сульфуру	мг/нм ³ CH ₄	Не більше ніж 300
Вміст сірководню	мг/нм ³ CH ₄	Не більше ніж 306
Вміст амоніаку	мг/нм ³ CH ₄	Не більше ніж 38
Відносна вологість	%	Не більше ніж 60
Температура газової суміші	°C	Не менше ніж 10 Не більше ніж 30

Чинні ТУ регламентують застосування певних методів контролю за якістю отриманого біогазу, який може бути використаний у

когенераційних установках. Відповідні методи разом із фізико-хімічними показниками наведено у таблиці 4.7.

Таблиця 4.7 – Фізико-хімічні показники біогазової суміші, отриманої на основі органічної речовини гідробіонтів

Найменування показника	Метод контролю	Періодичність контролю
1. Вміст метану	ДСТУ ISO 6974-1 ДСТУ ISO 6974-2 ДСТУ ISO 6974-3 ДСТУ ISO 6974-4 ДСТУ ISO 6974-5 ДСТУ ISO 6974-6	Один раз на добу
2. Нижча теплота згоряння	ДСТУ ISO 6976	Не рідше одного разу на місяць
3. Вміст сірководню	ГОСТ 22387.2	Один раз на добу
4. Вміст Оксигену	ДСТУ ISO 6974-6	Не рідше одного разу на місяць
5. Вміст карбон (IV) оксиду	ДСТУ ISO 6974-3 ДСТУ ISO 6974-4 ДСТУ ISO 6974-5 ДСТУ ISO 6974-6	Не рідше одного разу на місяць
6. Вміст механічних домішок	ГОСТ 22387.4	Не рідше одного разу на місяць
7. Вміст вологи та точка роси	ДСТУ ISO 10101-1 ДСТУ ISO 10101-2 ДСТУ ISO 10101-3 ДСТУ ISO 6327	Не рідше одного разу на місяць

Відбір проб біогазу здійснюють згідно з ДСТУ ISO 10715 [125]. У разі отримання незадовільних результатів аналізів хоча б за одним з показників

проводять повторні аналізи за цим показником на знову відібраній пробі. Результати повторних аналізів вважаються остаточними та поширюються на весь досліджуваний об'єм біогазу.

Отримання біогазу за допомогою відповідної біотехнології потребує неухильного дотримання вимог безпеки та правил охорони навколишнього середовища. Біогаз за токсикологічною характеристикою належить до речовин IV класу небезпеки відповідно до ГОСТ 12.1.007 [126]. Біогаз належить до групи речовин, здатних утворювати з повітрям вибухонебезпечні суміші, для біогазу конкретного складу концентраційні межі спалахування визначають відповідно до ГОСТ 12.1.044 [127].

Нижню межу вибухонебезпеки біогазової суміші, видобутої з органічної речовини гідробіонтів, з повітрям приймають – 4 %, верхню межу вибухонебезпеки – 12 %. Категорія вибухонебезпечної суміші – ПА–Т1. Гранично допустима концентрація метану біогазу у повітрі робочої зони дорівнює 300 мг/м^3 в перерахунку на Карбон відповідно до ГОСТ 12.1.005 [128]. Гранично допустима концентрація сірководню в повітрі робочої зони – 10 мг/м^3 , сірководню в суміші з метаном – 3 мг/м^3 .

Пожежогасіння здійснюється первинними засобами пожежогасіння: встановленим повітряно-пінним вогнегасником з площею гасіння 30 м^2 , або піском із встановленого ящика. Крім того для пожежогасіння мають бути використані інші засоби, об'єкту, де знаходиться біогазова установка, встановлені з розрахунку на 5000 м^2 один пожежний щит (стенд). Комплекцію щита треба приймати відповідно до НАПБ А.01.001 [129].

Безпека персоналу забезпечується:

- використанням обладнання із закритими рухомими частинами;
- теплоізоляцією нагрітих поверхонь, у результаті чого температура в місцях, з якими можливе стикання, не може перевищувати $45 \text{ }^\circ\text{C}$;
- конструктивним захистом від вибухів на всіх вузлах установки;
- споруди має обслуговувати спеціально навчений персонал, що має кваліфікаційну групу відповідно до НПАОП 40.1-1.21 [130].

Складання та затвердження інструкцій, умови їх перегляду здійснюють відповідно до вимог НПАОП 0.00-4.15. Проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці повинно проводитися відповідно до НПАОП 0.00-4.12-05. Працівники повинні бути забезпечені засобами індивідуального захисту відповідно до вимог НПАОП 0.004.01. Заходи із захисту від шкідливого та небезпечного впливу статичної електрики повинні відповідати вимогам ГОСТ 12.4.124. Заходи з охорони праці та техніки безпеки під час використання біогазу у когенераційних установках здійснюють з урахуванням вимог НПАОП 0.00-1.14, НПАОП 0.00-1.07, НПАОП 0.00-1.18, НПАОП 0.00-4.33, НПАОП 40.1-1.21 [130 – 138].

Відповідні ТУ поширюються на «Органо-мінеральне біодобриво на основі відпрацьованого в процесі метаногенезу субстрату», встановлюють кількісні та якісні характеристики біодобрива, що виробляється із відпрацьованої в ході метаногенезу органічної речовини гідробіонтів, і мають бути досягнуті з метою його ефективного використання у сільському чи лісовому господарстві.

Спосіб отримання біодобрива описаний у патенті № 104743 України (опубл. 10.02.2016, Бюл. № 3, 2016р.) (Додаток Б). Дані ТУ містять посилання на наступні нормативні документи, наведені у додатку Г:

Терміни, які використовуються у даних ТУ, встановлені ДСТУ 4533, ДСТУ 4884 та ДСТУ EN 12944-2 [139 – 141]. Нижче додатково наведено короткий перелік термінів та визначення позначених ними понять.

Біологічні методи перероблення – аеробне або анаеробне оброблення органічної речовини, що є у складі гідробіонтів.

Аеробне оброблення (компостування) – аеробний процес розкладання органічної речовини різними видами бактерій та грибків з отриманням ґрунтоподібного матеріалу (компост).

Анаеробне оброблення (зброджування) – анаеробний процес розкладання органічної речовини, що є у складі гідробіонтів, різними видами бактерій з утворенням біогазу.

Зазначені ТУ базуються на наступних загальних положеннях.

Для переробляння використовують органічну речовину гідробіонтів, придатну для отримання біогазу, зібрану з поверхні як природних так і штучних водойм, зокрема ставків та водосховищ. Хімічний склад органічної речовини залежить від видового складу гідробіонтів, погодно-кліматичних умов, пори року тощо.

Місце спорудження системи підготування біомаси гідробіонтів до переробки повинно обиратися в розрахунку на забезпечення можливості проведення технологічних операцій підготування та переробляння органіки за умови дотримання вимог, встановлених ветеринарно-санітарними та іншими чинними нормативними документами.

Всі споруди систем підготовки та переробки субстрату повинні бути забезпечені надійною гідроізоляцією, що виключає фільтрацію рідкої частини у ґрунтові води, а також інфільтрацію ґрунтових вод у споруди. Органічну речовину гідробіонтів від місця збору до місця обробляння, знезараження та підготування до використання слід транспортувати мобільним або стаціонарним транспортом. Завантаження мобільного транспорту повинно здійснюватись за допомогою спеціальних пристроїв.

Транспортування біомаси гідробіонтів здійснюється усіма видами критих транспортних засобів відповідно до правил перевезень, що діють на даному виді транспорту. Під час транспортування органічної речовини повинні бути передбачені заходи для забезпечення охорони довкілля від забруднення в місцях завантаження, на всьому шляху транспортування, у зонах розвантажування (переробки та зберігання біомаси).

У відповідних ТУ висуваються вимоги до технологічних процесів аеробної обробки біомаси гідробіонтів (компостування), а також вимоги до проектування системи збирання та використання біогазу. Так само зазначаються вимоги до технологічних процесів анаеробної обробки органічної речовини гідробіонтів (зброджування).

Технологічне обладнання процесу анаеробної обробки (зброджування) біомаси гідробіонтів включає: систему конвеєрів, приймальний бункер, подрібнювальне обладнання, центрифуги, стрічкові або камерні преси, насоси, метантенки, газгольдери, теплообмінники, обладнання для очищення біогазу, когенераційну установку. Оптимальні параметри біомаси для анаеробного зброджування мають бути:

- вологість – від 90 % до 92 %;
- масова частка золи – від 15 % до 16 %;
- показник концентрації водневих йонів, од рН, у межах від 6,0 до 7,5;
- початкове відношення вуглецю і Нітрогену (C:N) повинно наближатися до відношення C:N = (10-16):1.

Маса, що зброджується (субстрат), не повинна містити речовини, які пригнічують життєдіяльність метаноутворюючих організмів (важкі метали, антибіотики, дезінфікувальні засоби тощо). Для інтенсифікації метаногенезу, метантенки слід обладнати механізмами для примусового перемішування, руйнування кірки і підігрівання. Проектування систем споруд анаеробного зброджування біомаси треба здійснювати відповідно до СНиП 2.04.03 [142].

Зброджування доцільно проводити з підігріванням і підтриманням температур: $(33 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ – мезофільний режим або $(53 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ – термофільний режим. Тривалість зброджування субстрату у метантенках залежить:

- від фізико-хімічних властивостей сировини;
- від температурного режиму;
- від заданого ступеню розкладу органічної речовини.

Доцільно дотримуватися тривалості процесу: для мезофільного режиму від 10 діб до 30 діб, для термофільного від 7 до 15 діб.

У ТУ визначено також методи контролю за якістю біодобрива, отриманого на основі відпрацьованого дигестату. За агрохімічними та фізико-хімічними показниками органічна суміш повинна відповідати нормам наведеним у таблиці 4.8. Також ТУ визначено методи контролю біодобрива, отриманого з органічної речовини масових форм гідробіонтів. Під час

проведення лабораторних аналізів слід керуватися вимогами ГОСТ 26712 [143].

Таблиця 4.8 – Агрохімічні та фізико-хімічні показники органічної суміші

Назва показників	Норма	
	Для використання у сільському господарстві	Для використання у лісовому господарстві, зеленому будівництві та для рекультивації земель
Вміст фракцій крупніших ніж 50 мм, на суху речовину, %, не більше	2	2
Масова частка органічної речовини, на сухий продукт, %, не менше	40	40
Масова частка вологи, %	від 20 до 95	від 20 до 95
Показник концентрації водневих йонів, од. рН, у межах	від 6,0 до 8,0	від 6,0 до 8,0
Масова частка поживних речовин на сухий продукт, %, не менше:		
Нітроген загальний	1,8	1,5
Фосфор (P_2O_5) загальний	2,0	1,8
Калій (K_2O) загальний	0,1	0,1

Фізико-хімічні показники органічної суміші визначають:

- масову частку вологи згідно з ДСТУ EN 12048 та ГОСТ 26713 [144, 145];
- масову частку золи згідно з ГОСТ 26714 [146];
- показник рН згідно з ГОСТ 27979 [147];
- фракційний склад добрива методом розсіву добрива на ситах з розміром отворів 50 мм.

Агрохімічні показники органічної суміші визначають: а) масову частку органічної речовини згідно з ГОСТ 27980; б) масову частку загального Нітрогену згідно з ГОСТ 26715, ДСТУ ISO 4176 та/або ДСТУ ISO 5318. Токсикологічні показники органічної суміші (вміст важких металів) визначають згідно з РД 52.18.266. Санітарно-бактеріологічні показники органічної суміші визначають згідно з МУК 2293 [142, 143, 148 – 151].

Дозволено використовувати інші стандартні методики і методи та прилади, які за своїми характеристиками задовольняють вимоги цих ТУ та мають відповідне метрологічне забезпечення згідно з чинним законодавством України.

Даними ТУ регламентуються також правила приймання відповідного цільового продукту. Постачання органічної суміші споживачеві, який буде її використовувати, треба проводити партією. Партією вважають будь-яку кількість однорідного за своїми властивостями продукту, що направляється виробником в одну адресу. Обсяг партії не повинен перевищувати 1000 т.

Кожну партію продукту, що відпускається споживачеві, виробник повинен супроводжувати сертифікатом, який гарантує відповідність продукту вимогам цього стандарту. У сертифікаті необхідно вказати:

- назву продукту;
- найменування організації-постачальника;
- порядковий номер партії;
- дату її виготовлення (місяць, рік);
- масу (тонн);
- значення показників, що оговорені в стандарті;
- рекомендації із застосування.

ТУ передбачено неухильне дотримання відповідних вимог безпеки та охорони навколишнього середовища. Загальні вимоги безпеки повинні відповідати ГОСТ 12.3.002. і ДНАОП 2.0.00. Під час проведення вантажно-розвантажувальних робіт слід дотримуватися вимог безпеки згідно з ГОСТ 12.3.009. Необхідно дотримуватись вимог ГОСТ 12.1.004 та здійснювати

організаційно-технічні заходи із забезпечення пожежної безпеки відповідно до вимог НАПБ А.01.001 [129, 144, 145, 152, 153].

При безпосередньому потраплянні на шкіру біодобриво не виявляє негативної подразнюючої дії на організм людини. Робота з ним не потребує особливих заходів безпеки. Під час роботи з біодобривом необхідно дотримуватися правил особистої гігієни.

Під час біологічної переробки органічної маси гідробіонтів не повинні утворюватися технологічні відходи, які призводять до забруднення об'єктів навколишнього середовища. Виробничі майданчики для зберігання і переробляння органічного субстрату, споруди для знезаражування та очищення стічних вод повинні відповідати Ветеринарно-санітарним правилам, вимогам ВНТП-АПК-04.05, ВНТП-АПК-09.06, ДБН В.2.2-1 та ДБН Б.2.4-4. Поверхневі води від забруднення контролюють згідно з СанПиН №4630 [119, 146 – 148, 154].

Атмосферне повітря від забруднення шкідливими речовинами контролюють згідно з ГОСТ 17.2.3.01 і ДСП 201 [155, 156]. Вміст шкідливих речовин у викидах в атмосферу не повинен перевищувати гранично-допустимі концентрації (ГДК), встановлених ДСП 201: амоніаку – 0,2 мг/м³, оксиду нитрогену – 0,4 мг/м³, сірководню – 0,008 мг/м³, сірчистого ангідриду – 0,5 мг/м³, оксиду вуглецю – 5 мг/м³. Періодичність контролювання шкідливих речовин у викидах в атмосферу встановлюють органи державного нагляду.

Ґрунт від забруднення під час переробляння і зберігання біодобрива контролюють у відповідності з вимогами СанПиН 42-128-4690 [157]. Використання органічної суміші після біологічної переробки біомаси гідробіонтів не повинно впливати на наднормативне накопичення у ґрунті шкідливих речовин, зокрема, важких металів та інших сполук.

4.2 Інші цільові продукти

Напрямок технологічної переробки органічної речовини гідробіонтів на основі біомаси СЗВ вбачається досить перспективним з огляду на широкий спектр кінцевих продуктів, які можна отримати з досліджуваного субстрату (рис. 4.7).

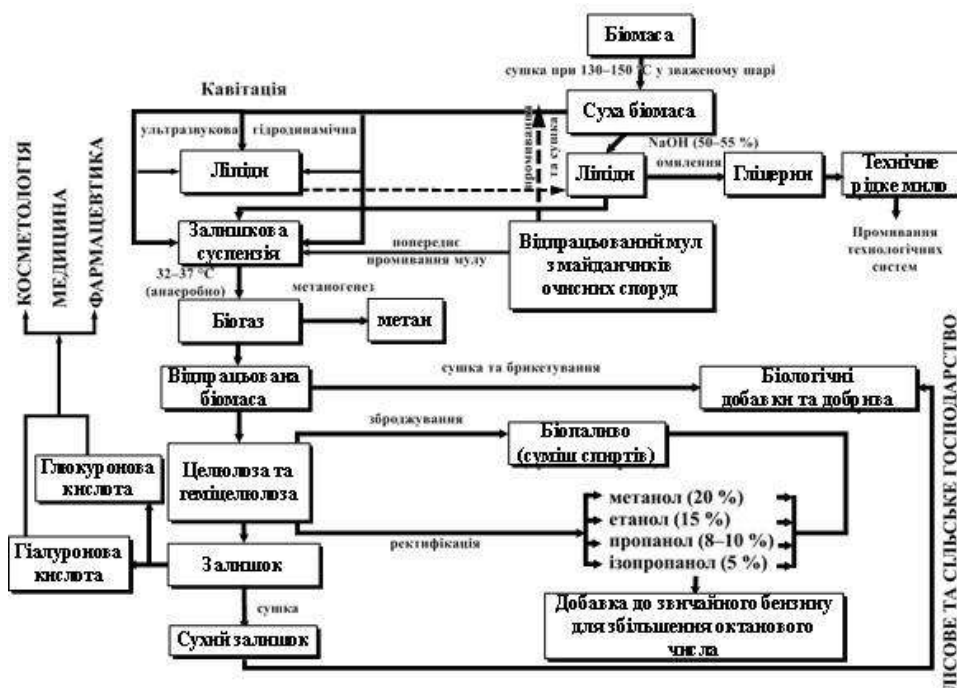


Рис. 4.7 – Біотехнологічні шляхи комплексної переробки біомаси гідробіонтів та галузі застосування її продуктів

Серед речовин, що можуть бути виділені з біомаси СЗВ та ефективно використані в національній економіці, в першу чергу на увагу заслуговують альготоксини, тетрапірольні пігменти ціанобактерій та гіалуронова кислота.

До найпоширеніших альготоксинів належать сакситоксини, анатоксин, мікроцистин та ін.. Як довели результати досліджень, біомаса СЗВ, що накопичується в акваторії Кременчуцького та Кам'янського водосховищ під час «цвітіння», у найвищих концентраціях містить саме мікроцистин – продукт метаболізму ціанобактерій виду *Microcystis aeruginosa*.

Дана органічна сполука має проявляти певні фунгіцидні властивості, будучи водночас відносно слаботоксичною для людини та інших ссавців, що дозволяє запропонувати її для використання в якості протигрибкового препарату в АПК та лісовому господарстві. Перші лабораторні дослідження вказують на ефективність застосування водного розчину, що містить

мікроцистин, проти пліснявих захворювань рослин родини пасльонові. Так нанесення препарату альготоксину на томати шляхом оприскування, зумовило стійке зниження відсотка уражених рослин у дослідній групі порівняно з контрольною.

Деякі з пігментів, що містяться у фотосистемах клітин ціанобактерій, зокрема фікоціанобілін та фікоеритробілін, після руйнування стінок СЗВ потрапляють у воду, зумовлюючи її інтенсивне забарвлення. Зазначені фотопігменти останнім часом з успіхом застосовуються фармакологічною промисловістю як складові препаратів, за допомогою яких здійснюється діагностика ВІЛ, а також як компонент ліків, що здатні гальмувати ріст і розвиток злоякісних пухлин. Перспективність використання пігментів ціанобактерій, зокрема фікоціанобілінів та фікоеритробілінів мікроцистису, зумовлено їх високою ціною за одиницю ваги та загальним високим вмістом цих сполук у воді дніпровських водосховищ під час їх «цвітіння». Окрім медичної галузі, дані пігменти можуть використовуватися у харчовій промисловості як фарбники для кондитерських та інших виробів.

Ще одним продуктом, який може бути хімічно виділений із біомаси СЗВ, є гіалуронова кислота. Ця речовина успішно застосовується в медицині та косметології зокрема. Для її видобування з органічної речовини клітин мікроцистису та інших гідробіонтів у ході лабораторного експерименту успішно було застосовано метод екстрагування в органічних розчинниках, де найкращі результати були отримані у пробах з використанням хлороформу.

Крім того за рядом джерел [158, 159] біомаса мікроводоростей має ряд переваг при використанні в якості субстрату для виробництва біодизельного палива порівняно з іншою доступною сировиною. При цьому розрахунки зазвичай зорієнтовані на штучне вирощування мікроводоростей, яке передбачає залучення у процес води, непридатної для використання людиною. Економічно привабливою дану технологію робить також те, що життєзабезпечення водоростей відбувається за рахунок сонячної енергії, яка з допомогою фотосинтезу перетворюється в хімічну енергію.

Завершення циклу одного покоління водоростей протягом декількох днів [160] та значна кількість їх біомаси у гідроекосистемах регіону роблять даний напрямок альтернативної біоенергетики досить перспективним. Враховуючи їх здатність до росту за більш жорстких умов та відсутність потреби у поживних речовинах мікроводорості можуть бути вирощені в областях, непридатних для сільськогосподарських цілей, незалежно від сезонної зміни погоди, не конкуруючи таким чином, за орні землі і використовуючи стічні води як поживне середовище – не вимагаючи використання прісної води [161–163].

Традиційно технологія виробництва біодизеля із мікроводоростей включає стадію вирощування біомаси за штучних умов. У випадку екстрагування ліпідів із біомаси вільно зростаючих у природних водоймах ціанобактерій цей етап можна виключити з загального технологічного циклу, що підвищує його економічність. Вилучені таким чином ліпіди є джерелом для синтезу біодизеля із використанням існуючих процесів та технологій, що використовуються для інших видів сировини. Після вирощування біомаси важливою операцією є збір та концентрування мікроводоростей. Вартість цієї операції складає 20–30 % від загальної вартості витрат на виробництво біодизеля [164]. Технологія концентрування мікроводоростей може включати декілька процесів (фізичних, хімічних чи біологічних), у результаті реалізації яких досягається необхідний ступінь розділення твердої та рідкої фаз. Досвід показав, що хоча універсального методу збирання та концентрування мікроводоростей не існує (це все ще активна область для досліджень), для кожного конкретного виду водоростей можна розробити оптимальну економну систему [165, 166]. Після концентрування у більшості випадків застосовують зневоднення біомаси, в результаті якої збільшується максимальний термін її зберігання. Для мікроводоростей застосовують такі способи зневоднення як барабанне, розпилююче, сублімаційне або сонячне сушіння [167].

Для виробництва біодизеля із біомаси повинні бути екстраговані ліпіди та жирні кислоти. Екстрагування здійснюється безпосередньо із ліофілізованої біомаси. Для екстрагування можуть бути використані такі розчинники як гексан, етанол, або суміш гексану і етанолу, що дозволяє вилучити до 98 % очищених ліпідів та жирних кислот [168].

Дослідженнями [169] встановлено, що у випадку порушення жорсткої клітинної стінки водоростей з допомогою ультразвукової обробки вилучення цільового продукту збільшується з 4,8 % до 25,9 %. Із отриманої сировини біодизель отримують за традиційною технологією – переетиризацією рослинних олій. Ліпідна сировина складається із 90–98 % (вагових) тригліцеридів та невеликої кількості моно- та дигліцеридів, містить вільні жирні кислоти (1–5) % і невеликі кількості фосфоліпідів, фосфатидів, каротинів, токоферолів, сполук сірки та сліди води.

Екстраговані з водорослевої маси та органічної речовини інших гідробіонтів ліпіди, можуть бути використані також для отримання ряду цінних цільових продуктів, серед яких вітаміни та інші біологічно активні речовини. Оскільки ціанобактерії мають досить щільну клітинну стінку, процес екстрагування та біорозкладу може проходити з низькою інтенсивністю. Для руйнування клітинної стінки за даними досліджень [167] успішно застосовується метод акустичної та гідродинамічної кавітації, в процесі якої утворюються зони високого та низького тисків, що руйнують клітинні стінки.

Результати камеральних досліджень переконливо свідчать, як і у випадку отримання ліпідів із ціанобактерій, що задля добування біогазу попередня гідродинамічна кавітація виявилась найефективнішою. Отримані дані покладено в основу розроблення технології переробки ціанобактерій, яка передбачає збір та гідродинамічну кавітацію біомаси для отримання із неї біогазу й екстракції ліпідів, як сировини для виробництва біодизеля.

РОЗДІЛ 5

КОМПЛЕКСНЕ НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ПЕРЕРОВКИ ГІДРОБІОНТІВ

5.1 Математична модель біометаногенезу

З метою дослідження та оптимізації процесу утворення біогазу із органічної речовини СЗВ та інших гідробіонтів було виконано планування експерименту, яке дозволяє варіювати різні чинники метаногенезу і отримувати кількісні оцінки ефектів їх взаємодії. Для цього використовували метод центрального композиційного рототабельного планування повного факторного експерименту ПФЕ-2² із зірковими точками.

Основними чинниками, що впливають на швидкість утворення біогазу із СЗВ є температура навколишнього середовища (t), °С та водневий показник (pH).

Межі варіювання чинників були обрані на підставі проведених досліджень і аналізу літературних даних з дослідження утворення біогазу з водоростей. При проведенні центрального композиційного рототабельного планування (табл. 5.1, 5.2) критерієм оцінки впливу обраних чинників був об'єм субстрату СЗВ та їх суміші з активним мулом очисних споруд м. Кременчук.

Таблиця 5.1 – Матриця планування і результати дослідів по субстрату СЗВ

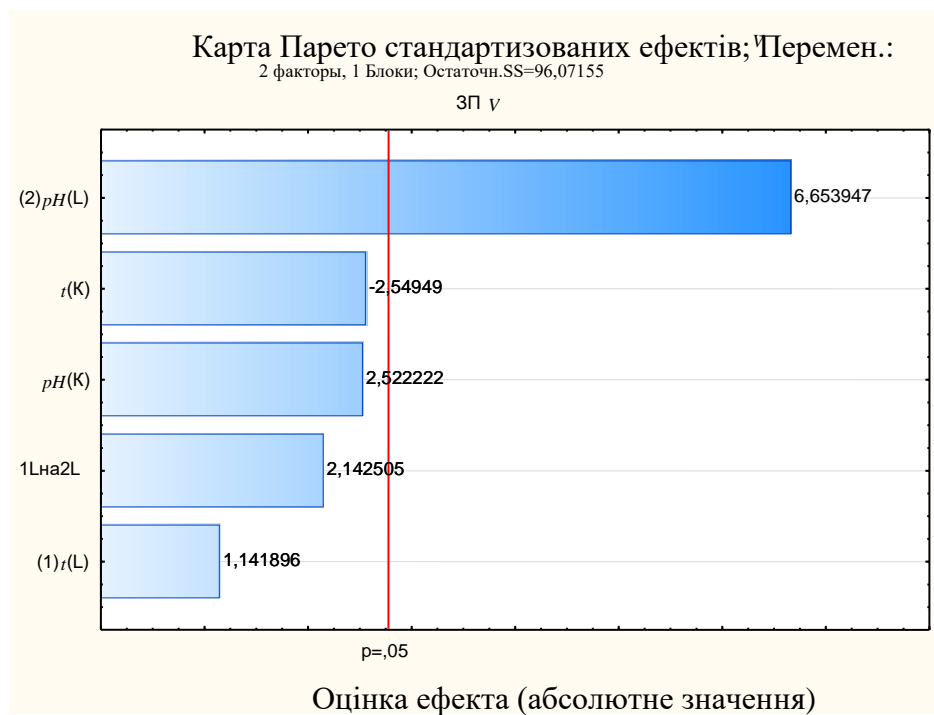
№ пор.	pH	t	pH	t	V
1	0,0	1,41421	6,89426	32,3	17
2	+1	+1	6,04574	32,3	19
3	0,0	0	6,47	29,4009	17
4	-1	-1	6,47	35,1991	15
5	1,41421	0	6,47	32,3	16
6	-1,41421	0	6,77	34,35	14
7	-1	+1	6,17	34,35	18
8	0,0	0	6,47	32,3	16
9	0,0	-1,41421	6,77	30,25	20
10	+1	-1	6,17	30,25	15

Таблиця 5.2 – Матриця планування і результати дослідів по субстрату суміші СЗВ і активного мулу очисних споруд Кременчука

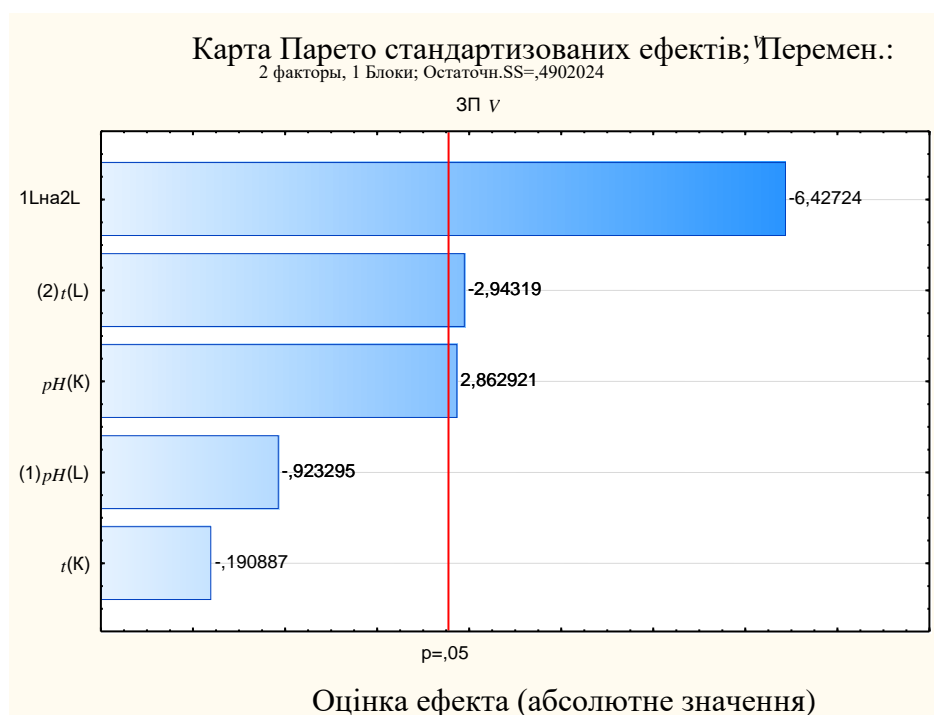
№ пор.	<i>pH</i>	<i>t</i>	<i>pH</i>	<i>t</i>	<i>V</i>
1	0,0	1,41421	40,0013	6,38	22
2	+1	+1	35,49	6,38	43
3	0,0	0	32,3	6,58	56
4	-1	-1	32,3	6,18	18
5	1,41421	0	35,49	6,38	44
6	-1,41421	0	35,49	6,66284	90
7	-1	+1	38,68	6,58	90
8	0,0	0	30,9787	6,38	18
9	0,0	-1,41421	38,68	6,18	10
10	+1	-1	35,49	6,09716	43

У результаті статистичної обробки експериментальних даних отримано рівняння регресії, що адекватно описує залежність досліджуваної функції відгуку від обраних чинників. Вплив кожного з варійованих чинників графічно відображено у вигляді стандартизованої карти Парето.

Стандартизована карта Парето, що зображена на рис. 5.1, дозволила встановити значущі чинники на величину об'єму біогазу із субстрату СЗВ та їх суміші з активним мулом. Перетин стандартизованих ефектів вертикальною лінією, яка становить 95 %-ну довірчу ймовірність, означає, що вплив чинників на функцію відгуку статично значимий.



(a)



(б)

Рис. 5.1 – Карта Парето для змінних субстрату СЗВ (а) і суміші СЗВ й активного мулу очисних споруд м. Кременчук (б)

Вплив чинників за ступенем значущості розподілився в наступному порядку (рис. 5.1, а): найбільшого ефекту на рівень концентрації СЗВ завдає pH середовища, причому знак «плюс» на карті Парето вказує на збільшення концентрації мікроорганізмів у субстраті при збільшенні чинника.

З карти Парето (рис. 5.1, б) добре видно, що найістотнішого впливу на величину субстрату суміші СЗВ і активного мулу очисних споруд завдає pH середовища. Найістотніше з парних взаємодій діє на швидкість утворення метаногенної мікрофлори парний ефект pH та t . Усі вони мають статистично значущі ефекти, на що вказує перетин стовпців вертикальною лінією, яка становить 95 % тест для визначення значущості.

У результаті статистичної обробки експериментальних даних отримані наступні рівняння регресії:

- для субстрату СЗВ:

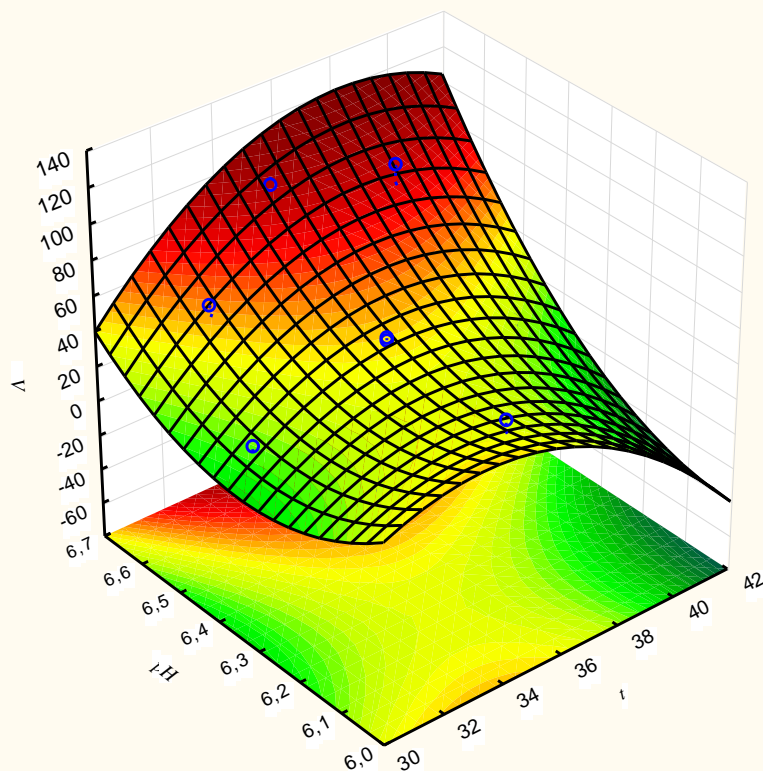
$$V = 13310,1 - 22,2358t - 4157,3pH - 1,14855t^2 + 16,4577tpH + 289,068pH^2 \quad (5.1)$$

- для субстрату суміші СЗВ і активного мулу:

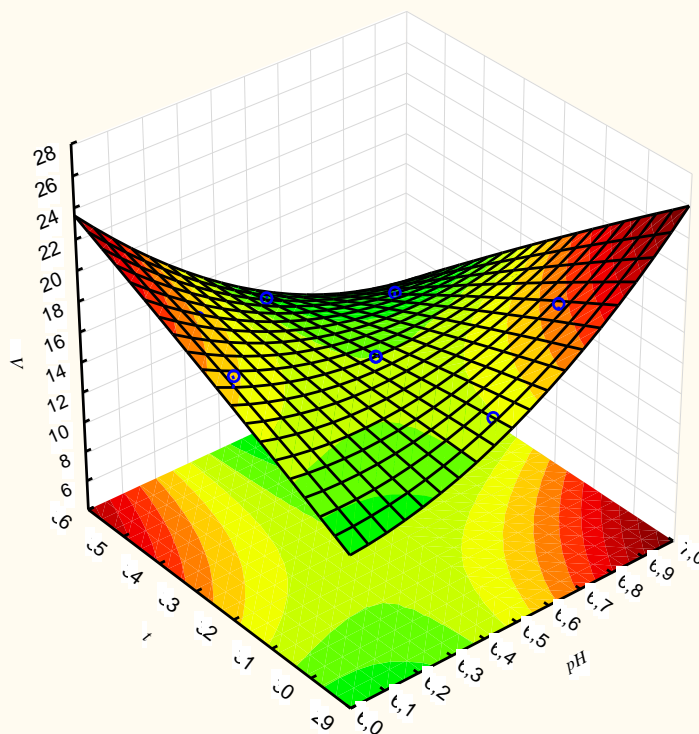
$$V = -311,619 - 17,3843pH + 24,2762t + 10,4168pH^2 - 3,65854pHt - 0,0148744t^2 \quad (5.2)$$

Працездатність моделі підтверджується високим коефіцієнтом детермінації R^2 , що дорівнює 94,78 % для субстрату СЗВ та 93,79 % – для субстрату суміші СЗВ і активного мулу. На рис. 5.2 зображені поверхні відгуку, що ілюструють залежність величини об'єму біогазу із субстрату СЗВ від змінних чинників.

Як і слід було очікувати, збільшення pH середовища супроводжується збільшенням об'єму біогазу із біомаси СЗВ. Особливо помітно це проявляється при високих рівнях температури.



a)



б)

Рис. 5.2 – Вплив температури навколишнього середовища та водневого показника на величину об'єму біогазу, одержаного із субстрату синьо-зелених водоростей (а) і суміші синьо-зелених водоростей з активним мулом (б)

5.2 Експлуатація біометаногенної установки

Даними ТУ, що поширюються на «Біометаногенну установку», встановлюються її комплектність та технічні характеристики. Ефективна та безпечна експлуатація промислової біогазової установки напряду пов'язана з їх неухильним дотриманням.

Відповідний стандарт не поширюється на вимоги до технологічного обладнання, що застосовується під час безпосереднього вилучення біомаси з навколишнього середовища та її використання у когенераційних установках. Спосіб отримання біогазу описаний у патенті № 104743 України (опубл. 10.02.2016, Бюл. № 3, 2016 р.) (Додаток Б).

Зазначені ТУ містять посилання на нормативні документи наведені у додатку Д:

У розроблених ТУ використано терміни, встановлені Законом України «Про відходи». Нижче додатково наведено короткий перелік термінів та визначення позначених ними понять.

Дайджестер (метантенк) – теплоізована ємність, у якій відбувається анаеробне зброджування відповідно підготовленої вихідної сировини, оснащена пристроями для завантаження-вивантаження сировини, для накопичення біогазу, для перемішування та для підігрівання сировини.

Газгольдер – стаціонарне газосховище – металевий резервуар для накопичення і зберігання газу.

Дигестат – органічний субстрат, що піддався процесам ферментації в ході біометаногенезу і підлягає вилученню з дайджестеру та подальшому використанню в якості органо-мінерального добрива чи утилізації.

Концентраційна колона – вертикально розташована ємність, в якій відбувається попередня підготовка субстратної речовини переважно шляхом седиментації органічної маси та відділення її від водної фази з подальшою концентрацією та подачею до дайджестера.

Органічна речовина, з якої складається біомаса гідробіонтів – органічна частина, що зазнає біологічного розкладу (біомаса ціанобактерій, рештки вищої водної рослинності тощо).

Свіча для факельного спалювання біогазу – пристрій для відбору, скиду і спалювання біогазу, що утворюється в процесі метаногенезу.

Дані ТУ містять наступні загальні положення.

До складу установки із збирання та використання біогазу входять:

- пристрої для відбору органічної речовини;
- концентраційна колона;
- метантенк (дайджестер);
- накопичувальна ємність для біогазу (газгольдер);
- свіча для факельного спалювання біогазу в аварійних ситуаціях або за наявності надлишку.

Хімічний склад отриманого біогазу згідно з ДСТУ 2272:2006 «Пожежна безпека. Терміни та визначення» [170] та Правилами пожежної безпеки в Україні [171] є вибухобезпечним, містить тільки інертні гази, не містить Оксиген.

Тиск біогазу на виході не перевищує 1–1,5 атм (близько 150 кПа), що дозволяє згідно з ДНАОП 0.00 – 1.07 – 94 «Правила будови та експлуатації посудин, що працюють під тиском» [172, 173] застосовувати для зберігання біогазу змінні камери високого тиску або газгольдер II класу високого тиску (від 7 кПа до 3 МПа) циліндричної форми.

Приблизний склад біогазу, що утворюється в результаті розкладу органічної речовини гідробіонтів (на основі біомаси ціанобактерій): метан – від 40 % до 70 %, двооксид вуглецю – від 30 % до 45 %, Нітроген, сірководень, Гідроген та інші гази – від 5 % до 10 %. Теплотворна здатність біогазу – від 18 МДж/м³ до 25 МДж/м³. Межі вибухонебезпечності суміші біогазу з повітрям – від 4 % до 12 %.

Кількість біогазу, що утворюється в процесі розкладання органічної речовини, визначають згідно з ДБН В.2.4-2 [119]. Прогнозування кількості

біогазу, що утворюється, виконують з урахуванням складу і властивостей сировини, її свіжості, місця відбору, умов та терміну зберігання, рН водної витяжки з субстрату.

Біогаз використовують як паливо для когенераційних установок. Система вилучення та знешкодження біогазу призначена для:

- вилучення та збирання біогазу;
- використання біогазу у когенераційній установці з виробленням електричної та теплової енергії чи для безпосереднього спалювання;
- зниження негативного впливу органічної речовини, що зазнає розпаду, на довкілля;
- забезпечення автономного режиму енерго- і теплопостачання споруд приватних та комунальних господарств.

5.3 Віртуальний комплекс технологічного процесу виробництва метану та добрива

З метою підвищення ефективності управління роботою дослідної метаногенної установки та технологічними процесами, що протікають у ній, у ході комплексних досліджень було застосовано платформу та середовище розробки для візуалізації – LabVIEW (*Laboratory Virtual Instrumentation Engineering Workbench*). Даний програмний продукт надає можливість системного збору та обробки даних, дозволяє подолати труднощі комп'ютерного (математичного) моделювання об'єкта дослідження зумовлені неоднорідною фізичною природою систем, топологічною складністю моделей, необхідністю реалізації багаторівневого моделювання.

У зв'язку з цим для розв'язання завдань дослідження розроблено велику кількість прикладних математичних комп'ютерних пакетів – так званих симуляторів (*simulation*) і віртуальних лабораторій (комплексів) на їх основі. Різні пакети програм відрізняються один від одного своїм призначенням, універсальністю, можливостями, вартістю тощо. Серед найбільш відомих світових лідерів у галузі створення пакетів для

моделювання та тренажерних технологій на їх основі можна назвати технологію віртуальних приборів LabVIEW.

LabVIEW – це середовище графічного програмування, яке використовують технічні фахівці, інженери, викладачі та вчені в усьому світі для швидкого створення комплексних застосувань у задачах вимірювання, тестування, керування, автоматизації наукового експерименту та освіти. В основі LabVIEW лежить концепція графічного програмування – послідовне з'єднання функціональних блоків на блок-діаграмі.

Програмне середовище LabVIEW є інструментарієм технології віртуальних приладів, що дозволяє створювати системи вимірювання, керування та діагностики різного призначення практично будь-якої складності, включаючи математичне моделювання і тестування цих систем. Суть цієї технології полягає в комп'ютерній імітації за допомогою програми реальних фізичних приладів, вимірювальних систем і систем керування.

Слово «віртуальний» означає, що прилади, реалізовані за цією технологією, насправді є реальними, такими, що працюють з реальними фізичними вхідними сигналами. Віртуальність тут розуміється як віртуальна імітація функцій приладу математичними і програмними методами. Перевага технології віртуальних приладів полягає в можливості програмним шляхом, спираючись на потужність сучасної комп'ютерної техніки, створювати різноманітні прилади, вимірювальні системи і програмно-апаратні комплекси, легко їх адаптувати до вимог, що змінюються, зменшити витрати і час на розробку.

Відповідно до технологічної схеми (рис. 5.3) за допомогою LabVIEW було розроблено прикладне програмне забезпечення для організації взаємодії з вимірювальною апаратурою, апаратурою керування, збору, обробки і відображення інформації та результатів розрахунків, а також моделювання як окремих об'єктів, так і автоматизованих систем у цілому.

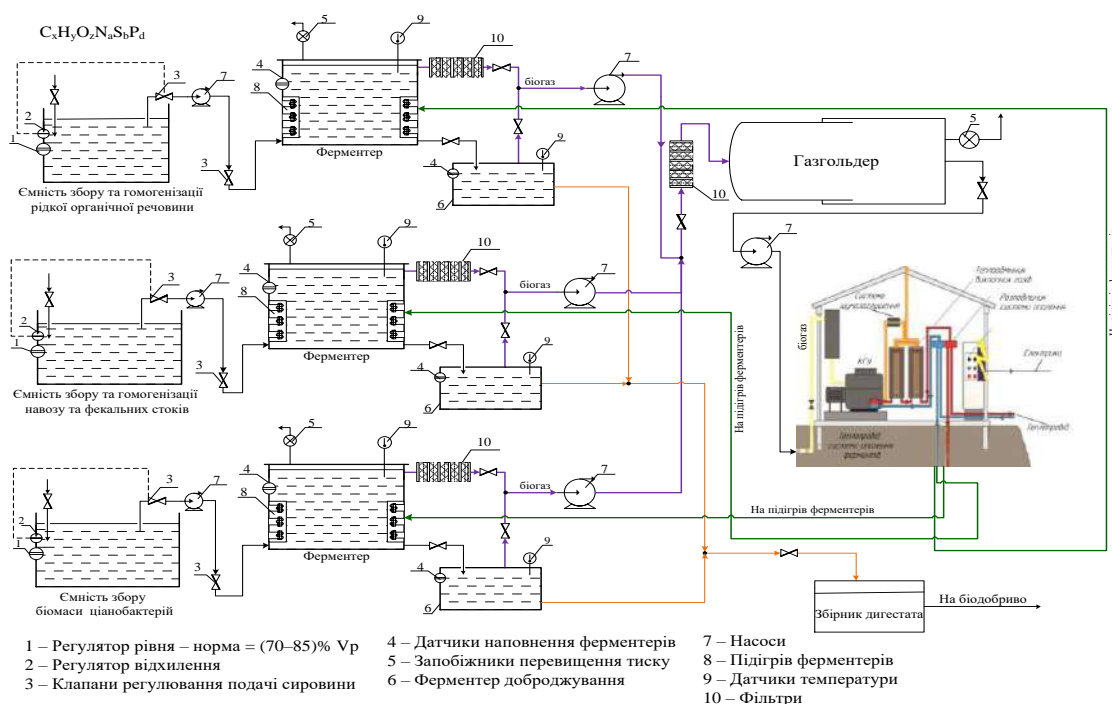


Рис. 5.3 Технологічна схема отримання біогазу із застосуванням комплексу субстратів

Для створення лицьової панелі віртуального стенда використовувалися стандартні графічні інструменти дизайну пакета LabVIEW і редактор Microsoft Visio. Взаємодія користувачів з прикладним програмним забезпеченням, що входить до складу системи здійснювалося за допомогою візуального графічного інтерфейсу.

Системою забезпечувалася коректна обробка аварійних ситуацій, викликаних помилковими діями користувачів, неправильним форматом або недопустимими значеннями вхідних даних. Для визначення порядку виконання програми шляхом організації її елементів у визначену послідовність використана відкрита структура послідовності Flat Sequence Structure. Такий підхід дає наступні переваги:

- усі кадри структури наочні та не приховують ділянки коду;
- дані передаються по тонелям, а не з локальних терміналів.

У першому кадрі виконується початкова ініціалізація індикаторів, очищення таблиці та графіків, приховування проміжних змінних та завдання рівнів речовин у баках. Наступний кадр відповідає за вибір режиму роботи стенду та завдання початкових умов (рис. 5.4).

зумовлює її безвідходність. Упровадження БТ у національну економіку сприятиме виконанню трьох функцій – енергетичної, екологічної й аграрної.

Застосування розробки дозволить забезпечити дешевим метаном і добривом фермерські господарства та поліпшити екологічний стан р. Дніпро, прибережних населених пунктів і місць відпочинку, збільшити продуктивність риби, а також знизити витрати на очистку води відповідно до ДСТУ «вода питна», оскільки вилучення ціанобактерій із води призведе до поліпшення її якості (під час природного бродіння у воді накопичуються метан, ацетон, олійна і оцтова кислоти, бутанол, феноли, аміни типу «трупних отрут» (путресцини), у результаті життєдіяльності ціанобактерій виділяється понад 20 різноманітних альготоксинів тощо.

У перспективі передбачається розбудова мережі стаціонарних і пересувних комплексів з утилізації ціаней та іншої надлишкової біомаси (вищої водної рослинності, відходів рослинництва і тваринництва, листяного опаду із населених пунктів тощо) уздовж Дніпровського національного екологічного коридору задля забезпечення сталого еколого-економічного розвитку придніпровських регіонів.

Апробацію процесу отримання метану і біодобрива проведено на базі лабораторій кафедри біотехнологій та біоінженерії, кафедри технології машинобудування КрНУ. Експериментальна розробка відрізняється типом використаного субстрату (біомаса ціанобактерій) і кількісним складом біогазу (збільшення вмісту метану за рахунок відсутності сірководню і зменшення двооксиду вуглецю).

Метою проекту передбачено розробку та впровадження в національну економіку екологічної біотехнології виробництва метану із органічної речовини ціанобактерій та активного мулу. Завдання, на вирішення яких спрямовано проект:

- 1) дослідити специфіку ферментативних реакцій біометаногенезу дигестату ціанобактерій;

2) визначити видовий склад ціанобактерій і мікроорганізмів, які беруть участь у деградації та біоконверсії органічної речовини (фіто- і зоогенного субстрату);

3) вивчити технологічні умов виробництва метану;

4) розробити комплексну екологічну біотехнологію, що забезпечує рентабельне виробництво біогазу із біомаси ціанобактерій, зібраної під час «цвітіння» акваторії водосховищ дніпровського каскаду та активного мулу;

5) провести моделювання БТ на найбільшому в Європі – Кременчуцькому водосховищі;

6) розрахувати економічну та соціальну ефективність упровадження біоконверсійних дайджестерів (метантенків) в умовах фермерських господарств на території Середнього Придніпров'я;

7) розробити конструкторську документацію на виготовлення комплектуючих елементів стаціонарного комплексу (СК) з концентраційної колони й анаеробної камери для виробництва метану із СЗВ;

8) виготовити, змонтувати та запустити СК в натурі;

9) протестувати технологічну схему виробництва метану за допомогою датчиків температури, тиску, рН тощо;

10) провести апробацію мінералорганічного добрива в польових умовах;

11) розробити бізнес-план серійного виробництва, установки і запуску СК, оформлення відповідної документації.

Основні способи, підходи, ідеї та гіпотези, що зумовлюють економічний ефект упровадження прикладної розробки в національну економіку:

А) ідея використання надлишкової біомаси гідробіонтів узагалі та синьо-зелених водоростей зокрема як безкоштовного субстрату для біометаногенезу;

Б) застосування екологічно безпечного й економічно вигідного способу збору сестона (біомаси);

В) ідея використання відпрацьованого субстрату як мінералорганічного добрива;

Г) гіпотеза багаторазового завантаження анаеробних камер відпрацьованим субстратом (інокуляція) задля скорочення тривалості перших етапів метаногенезу;

Д) підхід з оздоровлення довкілля і населення шляхом поліпшення якості природної, у тому числі питної води, унаслідок вилучення СЗВ з акваторії водосховищ дніпровського каскаду;

Е) упровадження дешевого виробництва біогазу і трансформації його в електроенергію;

Ж) під час збору сестона в плямах «цвітіння» на акваторії лише Кременчуцького водосховища площею 2250 км² у кількості до 50 кг/м³ із об'єму 828 млн. м³ води мілководь (глибина до 2 м; 18,4 % площі водойми) його біомаса становитиме $4.14 \cdot 10^7$ т за вегетаційний період (70 – 120 діб); піддавши цю біомасу ферментації в процесі метаногенезу, можна отримати до 108 млн. м³ біогазу (≈ 87 млн. м³ метану), що еквівалентно 76 тис. т нафти або 65 тис. т дизельного палива або 8 – 11 тис. т ліпідів.

Результати SWOT-аналізу наведені у табл. 5.3

Таблиця 5.3 – **SWOT-аналіз виробництва біогазу з дигестату ціанобактерій**

Сильні сторони (Strengths)	Можливості (Opportunities)
1) використання отриманого біогазу для підтримання роботи станції; 2) використання відновлювального джерела енергії	1) використання безкоштовної сировини як субстрату для ферментації; 2) орієнтація світової спільноти на поліпшення умов життя для людини, насамперед у сфері екології
Слабкі сторони (Weaknesses)	Загрози (Threats)
1) більша вартість виробленого метану, ніж природного; 2) не сформований чіткий зв'язок зі споживачами продукції, що випускається	1) несприятливі зміни у системі оподаткування; 2) поява нової технології виробництва у конкурентів; 3) сезонний характер появи і розмноження СЗВ

Суть проекту та характеристика продукту

З огляду на очікувану перспективність упровадження даної біотехнології в умовах малих фермерських господарствах і з метою економії енергоресурсів, розрахунок параметрів процесу здійснювався щодо мезофільних умов ферментації. А саме: отримання максимальних об'ємів біогазу з найвищим вмістом метану досягається за температур субстрату в межах 32–35 °С, при збільшенні чи зменшенні цих показників спостерігається підвищення вмісту супутніх домішок у біогазовій суміші, головним чином – двоокису вуглецю.

Метантенки можуть працювати в періодичному, безперервному і напівбезперервному режимах. Робота в режимі безперервного завантаження оптимальна з точки зору отримання найбільшої кількості біогазу та біодобрив, а також стабільної роботи установки, передбачає щоденне завантаження сировини і вивантаження збродженої маси. Перехід на безперервний режим зброджування при збереженні значення розпаду призводить до деякого збільшення об'єму реактора.

Добова доза завантаження сировини визначається, виходячи з часу зброджування (час обороту реактора) і обраного температурного режиму. Для мезофільного режиму зброджування час обороту реактора становить від 10 до 20 діб, а добова доза завантаження – від 1/20 до 1/10 від загального обсягу сировини в реакторі [174].

Одним з ключових чинників будь-якого мікробіологічного процесу є час перебування мікроорганізмів у середовищі (час утримування). Для забезпечення ефективної біоконверсії складних органічних речовин до CH_4 і CO_2 необхідно, щоб мікроорганізми перебували в достатній кількості, а час їх перебування в середовищі було достатнім для забезпечення метаболізму субстрату і при цьому не відбувалося вимивання бактерій.

Час перебування (ЧП) є відношення об'єму осаду в реакторі до обсягу завантаженого (вивантаженого) осаду за добу. Для звичайних метантенків, що працюють за принципом реакторів–змішувачів з однорідною концентрацією мулової суміші, рівної концентрації суміші в вивантаженому

осаді, ЧП відповідає гідравлічному ЧП (ГЧП), тобто часу перебування в реакторі всій мулової суміші. У реакторах, де використовується принцип утримування біомаси на спеціальних носіях, $\text{ЧП} > \text{ЧВП}$.

Зниження вологості завантажується в метантенк осаду при одному і тому ж часі перебування забезпечує збільшення навантаження і, навпаки, при одному і тому ж навантаженні збільшується тривалість зброджування. При зброджуванні осаду однієї і тієї ж вологості збільшення навантаження призводить до відповідного зниження тривалості зброджування. При видаленні з опадів води і відповідному підвищенні їх концентрації відбувається збільшення їх зольності внаслідок видалення з надосадової рідиною або фугатом частини органічних речовин. Із збільшенням зольності осаду знижується практична межа розпаду, а при збільшенні зольності до 76,7 % зброджування практично припиняється [175].

Аналіз стану справ у галузі. В Україні існує 748 водосховищ об'ємом понад 1 млн.м³. Створення на Дніпрі каскаду гідроелектростанцій та водосховищ зумовило поступовий розвиток багатьох складних екологічних проблем. З шести великих Дніпровських водоймищ – Запорізького, Каховського, Кременчуцького, Кам'янського, Київського і Канівського, Кременчуцьке і Каховське мають водообмін 2–4 рази на рік і відносяться до типу озерних, для яких характерне значне зменшення швидкості течії та інтенсивності процесів самоочищення.

На час створення Кременчуцького водосховища площа його акваторії становила 225 тис. га, в тому числі мілководдя приблизно 42 тис. га. Згідно з офіційними даними, в 80-х роках вилов риби в водоймах Черкаської області складав понад дев'ять тис. тон. Період 90-х років характеризується найнижчою рибопродуктивністю водосховища. Загострення економічної кризи в країні в період 1993–1998 рр. зумовило призупинення рибницько-меліоративних робіт. Через короткий час це призвело до скорочення загальної площі водосховища на 17 тис. га.

Внаслідок надмірної експлуатації Кременчуцького водосховища площа мілководь з різних причин, але в першу чергу за рахунок людського фактору, зменшилась з 41,5 тис. га до 30,6 тис. га, з яких понад 10 тис. га заросли надводною рослинністю та замулились. Значне зменшення мілководної зони зумовило скорочення нерестових площ. Окрім того, внаслідок спрацювання рівня води на водосховищі в осінній період на багатьох ділянках мілководь утворюються відокремлені ділянки, де залишається на зимівлю велика кількість молоді риби.

Під час зимівлі на цих ділянках постійно відмічаються випадки масової загибелі риби від задухи. За останні 10 років документально зафіксовано загибель понад 85 млн. екземплярів риби цінних видів риби (плітка, лящ, судак та ін.). Масова загибель молоді риби фіксувалась у зимовий період 1999–2000, 2000–2001 р.р. унаслідок спрацювання рівня води на водосховищі, а в 2001–2002 р. – після аварії на очисних спорудах м. Черкаси.

У літній період на більшій частині акваторії Кременчуцького водосховища встановлюється озерний режим. При високій температурі повітря спостерігається інтенсивне «цвітіння» води, виникає скупчення водоростей, а їх подальше розмноження має негативні наслідки для санітарно-біологічного стану якості води, внаслідок чого виникає дефіцит кисню в нижніх горизонтах води та в нічні години. Утворюються різноманітні органічні та неорганічні речовини, в тому числі і токсичні, що погіршує умови існування та нагулу риби.

На жаль, контроль за кисневим режимом води у водоймі, боротьба із задухою риби рибодобувними підприємствами проводяться поверхнево, або взагалі не здійснюється. З рибницько-меліоративних робіт фактично проводиться лише зариблення водосховища, що пов'язано з фінансовою зацікавленістю цих підприємств. Тому можна очікувати, що площа Кременчуцького водоймища, яка охоплена «цвітінням» води в літній час, буде і надалі збільшуватися в результаті того, що значна частина біогенних

речовин та висока температура води в літній період буде стимулювати надмірне розмноження СЗВ.

Окремо слід виділити проблему щорічної загибелі риби внаслідок викидів у водосховище побутових та комунальних відходів. До Кременчуцького водосховища тільки по місту Черкаси скид стічних вод, відведених з забудованої території на якій вони утворилися внаслідок випадання атмосферних опадів, ведеться по 17 випусках без очистки. Очисними спорудами обладнаний лише один випуск, але і той не забезпечує необхідної очистки. Реконструкція очисних споруд не ведеться. Аварійний скид з міського колектору в 2001–2002 р.р. викликав масове отруєння і значної загибелі риби (переважно молоді).

Таким чином, унаслідок перелічених факторів на Кременчуцькому водосховищі виникла критична ситуація умов відтворення рибних запасів, для ліквідації якої необхідно терміново вжити заходи по відновленню рибних запасів Кременчуцького водосховища. Своєчасне проведення розчистки та поглиблення шляхів підходу плідників до місць нересту та скату молоді риб до місць нагулу може забезпечити підвищення рівня природного відтворення основних видів промислових риб та продуктивності Кременчуцького водосховища. Тому протягом 2003–2007 рр. Черкаською та Полтавською облдержрибінспекціями за участю представників департаменту екобезпеки та місцевого самоврядування регулярно обстежуються всі проблематичні мілководдя Кременчуцького водосховища з детальним аналізом змін, що спостерігаються за останні роки. Для проведення комплексу днопоглиблювальних меліоративних робіт на мілководдях Кременчуцького водосховища коштів обласного природоохоронного фонду не вистачає, а питання державного фінансування по вирішенню цієї проблеми залишається відкритим.

План маркетингу. У грудні 2017 року Державна служба статистики України оприлюднила енергетичний баланс країни за 2016 р. [176]. У 2016 р. заміщення газу біопаливом склало 3,26 млрд. м³/рік, а середній темп

зростання з 2010 р. до 2015 р. становив 38 % / рік. По показнику «Загальне постачання первинної енергії з біопалива та відходів» у 2016 р. заміщення газу біопаливом склало 2,63 млрд. м³/рік, а середній темп зростання у період 2010-2015 рр. становив 26 %/рік.

Різницю між «виробництвом» та «постачанням» складає експорт біопалив за межі України у вигляді гранул (пелет), тріски, дров та інших видів твердого біопалива. Ці ресурси, що експортуються, легко можуть бути залучені до використання на внутрішньому ринку України при створенні сприятливих умов для цього. Роль біоенергетики в енергобалансі 2016 р. відзначена як ключова. У структурі виробництва відновлюваних джерел енергії у 2016 р. найбільшу питому вагу мало біопаливо – 81,3 %. У 2016 р. внесок енергії з біопалива складав 2,5 % (1283 тис. т нафтового еквіваленту) кінцевого споживання енергії та 2,3 % (2102 тис. т нафтового еквіваленту) загального постачання первинної енергії в Україні.

Статистичних даних щодо виробництва енергії з біопалива у 2018 році ще немає, але є підстави прогнозувати, що заміщення природного газу біопаливом перевищить 3 млрд м³/рік. Приблизно половину цієї величини складає заміщення газу в приватних домогосподарствах шляхом спалювання, переважно, дров. Друга половина – це заміщення газу в промисловості за рахунок використання дров, деревної тріски, пелет, лушпиння соняшника. Фактично, це два сектори, де держава не регулює встановлення тарифів на тепло, і інвесторам економічно вигідно заміщувати природний газ, враховуючи його суттєве подорожчання протягом останніх років. Терміни окупності відповідних біоенергетичних проектів зазвичай складають 2-3 роки.

Україна має значний потенціал біомаси, доступної для виробництва енергії – близько 29 млн т умовного палива за даними 2016 року. Основними складовими потенціалу є побічна продукція сільського господарства (солома, стебла та ін.) і енергетичні культури.

Енергетичний потенціал біомаси аграрного походження (близько 11 млн т умовного палива/рік) в Україні у більш, ніж п'ять разів перевищує потенціал таких видів деревної біомаси, як дрова, порубкові рештки та відходи деревообробки (близько двох млн. т умовного палива/рік). Проте солома, стебла та інші побічні продукти сільськогосподарського виробництва суттєво складніші для використання в якості палива, потребують спеціалізованого і більш дорого обладнання, а також досить складного етапу збирання, транспортування і зберігання. Однак, без залучення агровідходів і залишків в енергетичний баланс Україна не зможе суттєво збільшити обсяги заміщення природного газу. Масове споживання таких біопалив – це найближче майбутнє розвитку біоенергетики в країні.

Біомаса може зробити значний внесок у прямому заміщенні викопних палив при виробництві теплової енергії. В Україні є ряд бар'єрів, які перешкоджають широкому залученню біопалив до цього сектора. Внаслідок монопольного становища підприємств теплокомуненерго в секторі централізованого тепlopостачання та недосконалого законодавства, в Україні існують такі проблемні питання в секторі централізованого тепlopостачання: відсутність передумов для конкуренції, відсутність стимулів для підвищення ефективності виробництва теплової енергії, існування бар'єрів для доступу до тепломереж незалежних виробників теплової енергії (у тому числі виробників теплової енергії з біомаси), високі тарифи на теплову енергію, низькі інвестиції в модернізацію систем централізованого тепlopостачання, відсутність/нестача інвестицій як наслідок недосконалості існуючих механізмів тарифоутворення («собівартість +6 %»). Зазначені проблеми можуть бути вирішені шляхом створення в Україні конкурентного ринку теплової енергії.

Однак, якщо нині певна частина енергетичного потенціалу наземної біомаси рослинного походження утилізується людством (сьогодні шосту частину споживаної енергії отримують із сільськогосподарської та іншої фітомаси, що еквівалентно щоденному використанню понад чотирьох млн т

нафти), то біомаса гідробіонтів узагалі і фітопланктону зокрема не затребувана. Тому використання ціанобактерій під час їх масового розвитку (так званого «цвітіння») на акваторії водосховищ дніпровського каскаду задля отримання біогазу дозволить отримати не лише додаткове джерело енергії, а й призведе до поліпшення санітарно-гігієнічного стану води та прибережних територій [177].

Поза межне «цвітіння» води, домінуючими агентами якого в умовах дніпровських водосховищ є представники родів *Microcystis*, *Phormidium*, *Aphanizomenon*, *Anabeana* та *Oscillatoria*, слід розглядати як біологічний сигнал неблагополуччя в гідроекосистемах. Серед численних механічних, фізико-хімічних, біологічних і екологічних методів пригнічення масового розвитку ціанобактерій найбільш ефективними є останні два, оскільки вони дозволяють позбавитися від причин, а не від наслідків «цвітіння» води [178].

Поточні темпи розвитку сектору біоенергетики в Україні є недостатніми для досягнення цілей Національного плану дій з відновлюваної енергетики на період до 2020 року. Для виконання цілей Національного плану дій з відновлюваної енергетики по біоенергетиці необхідне створення в країні конкурентних ринків теплової енергії та біопалива. Прийняття проекту Закону «Про внесення змін до Закону України «Про тепlopостачання» щодо стимулювання виробництва теплової енергії з альтернативних джерел енергії» (№ 4334 від 30.03.2016) сприятиме розвитку конкурентного ринку теплової енергії. Для створення конкурентного ринку біопалива в Україні необхідно забезпечити вільний доступ підприємств усіх форм власності до відходів або побічної продукції лісового та сільського господарства, а також заснувати біопаливну біржу для реалізації операцій купівлі-продажу різних видів біопалива.

Виробничий план. Сировиною для виробництва біогазу є біомаса СЗВ. Процес виробництва складається з наступних етапів: 1) збір сировини і гомогенізація; 2) завантаження в БГУ і ферментація сировини; 3) вихід

біогазу і відпрацьованого субстрату. Отриманий біогаз тимчасово зберігається в газгольдері до його практичного використання та реалізації.

Інвестиції у вигляді позичених коштів будуть спрямовані на будівництво та монтаж установки. Запуск БГУ планується здійснити через три місяці після початку монтажних робіт.

При розрахунку сезонних показників виходу сировини (ціанобактерій), біогазу за кожен період взято 90 днів (сезон «цвітіння» води). Вихід біогазу наведено в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4 – Розрахунок виходу біогазу

Період	Середній вихід біогазу за сезон, м ³	Об'єм біогазу для власних потреб*, м ³	Сезонний об'єм біогазу для продажу, м ³ /сезон
1-й сезон	80,3	12,832	68,075
2-й сезон	80,3	12,832	68,075
3-й сезон	80,3	12,832	68,075
4-й сезон	80,3	12,832	68,075
5-й сезон	80,3	12,832	68,075

Організаційний план

Для оптимізації процесу виробництва пропонується залучити двох інженерів-технологів для обслуговування обладнання, двох біотехнологів для контролю виробництва і двох водіїв для зручності під час забезпечення виробничого процесу. Керівник підприємства очолює оперативну роботу всіх робітників та підпорядковується генеральному керівництву. У кожній зміні планується наявність одного біотехнолога, одного інженера-технолога та одного водія, з робочим часом вісім годин на добу. Перед початком кожної зміни робітники повинні пройти інструктаж.

На підприємстві найнято вісім робітників з середньою зарплатою 7 000 грн. за місяць. Усі робітники задіяні у виробництві і реалізації біодобрива і біогазу. Відрахування в позабюджетний фонд складає 18 % від середньої заробітної плати (табл. 5.5).

Таблиця 5.5 – **Фонд заробітної платні (грн.)**

Період	1-й сезон	2-й сезон	3-й сезон	4-й сезон	5-й сезон	Всього
Кількість робітників	8	8	8	8	8	8
Зарплата	48000	57600	69120	82944	99532	357196
Відрахування в позабюджетний фонд	8640	10368	12441	14930	17916	62287
Разом	56640	67968	81561	97874	117448	419483

Розрахунки передбачають підвищення заробітної плати на 20 % щорічно. У результаті, сумарні витрати на заробітну плату за п'ять сезонів складають 419,5 тис. грн.

Ризики проекту та методи їх компенсації. Оцінка можливих ризиків за стадіями проекту.

1. Підготовча стадія:

– ставлення влади – ризик відсутній. Проект проводиться з ціллю зменшення використання невідновлювальних джерел енергії (нафта, газ), та зменшення негативного впливу від «цвітіння водойм»;

– доступність підрядників на місці – ризик незначний. На місцевому районному ринку будівельних робіт спостерігається перевищення пропозиції над попитом і існує можливість вибору підрядної організації в результаті тендеру;

– віддаленість від інженерних мереж – ризик незначний. Господарство має необхідні інженерні мережі та комунікації. Електроживлення виробничих об'єктів за відсутності боргів за електроенергію здійснюється без відключень, за винятком аварійних. Після першого сезону планується обладнати біогазову станцію під використання власної енергії.

2. Будівельна стадія:

- несумлінність підрядника – ризик присутній. При проведенні будівельно-монтажних робіт необхідне залучення декількох підрядників до різних видів робіт. Це дає можливість зменшити можливі ризики;

- непередбачувані витрати, в тому числі через інфляцію – ризик присутній. Проведення довготривалого прогнозу економічної і політичної ситуації. Страхування цього виду ризику.

3. Стадія експлуатації:

- підвищення податків – ризик незначний. Мета податкових реформ – сприяти розвиненню сільського господарства та біоенергетики в Україні;

- складності з набором кваліфікованого персоналу – ризик незначний. Двотижневе навчання в процесі запуску виробничої лінії;

- недостатній рівень заробітної плати – ризик присутній. Застосування системи заохочень персоналу за результатами роботи за сезон;

- пожежі – ризик присутній. Страхування;

- шкідливість виробництва – ризик присутній. Будування об'єкту поруч з тваринницькими об'єктами, які вже мають необхідне віддалення від житлового сектору;

- природно-кліматичні умови – ризик незначний;

- кримінальні ризики – відсутні.

Отже, проаналізувавши можливі ризики можна дійти висновку, що виробництво біогазу з надлишкової біомаси СЗВ може наражатися на ризики на стадії будівництва, а саме: несумлінність підрядника і непередбачувані витрати пов'язані з інфляцією, а також на стадії експлуатації – недостатній рівень заробітної плати, шкідливість виробництва і пожежі, але всі вони можуть бути усунені компетентним управлінням персоналом і капіталом.

ВИСНОВКИ

На підставі оригінальних результатів проведених теоретичних та експериментальних досліджень розроблено біотехнологію переробки масових форм гідробіонтів на прикладі ціанобактерій з отриманням ряду цінних цільових продуктів.

1. З'ясовано еколого-економічне значення ціаней та перспективи ефективного використання їх біомаси. Визначено видовий склад вихідного субстрату для біометаногенезу (*Microcystis aeruginosa*), біомаса якого на окремих ділянках водосховища може сягати 70–100 г/м³ та його мікробіологічні характеристики.

2. Досліджено фізичний, хімічний і біологічний аспекти процесу біометаногенезу, встановлено послідовність біохімічних процесів при виробництві біогазу із СЗВ та з'ясовано їх особливості. Змодельовано процес біометаногенезу у лабораторних умовах, у результаті чого отримано перші зразки біогазової суміші із малих об'ємів (до 1 дм³) субстрату на основі біомаси гідробіонтів з плям «цвітіння» та доведено її прийнятні енергетичні властивості (вміст метану до 73 %). Визначено хімічний склад зразків біогазу різного походження та виконано порівняльний аналіз їх фізичних властивостей.

3. Створено новий безвідходний технологічний процес, що забезпечує раціональне використання природних ресурсів (надлишкової біомаси ціаней) та диверсифікує отримання біопалива II і III генерацій. Застосування запропонованої біотехнології дозволяє суттєво зменшити негативні наслідки явища «цвітіння» природних і штучних водойм у регіоні, а також отримати цінні енергетичні продукти у вигляді біометану, біодизелю, біодобрива та цілого ряду органічних речовин, перспективних для використання у косметичній, фармакологічній та хімічній галузях економіки.

4. Здійснено обґрунтування наукових засад екологічно безпечної біотехнології переробки ціаней, доведено ефективність використання за субстрат біомаси інших масових форм гідробіонтів (вищої водної рослинності, морських макрофітів тощо), а також мультисубстратних сумішей (листяний опад, активний мул, стічні води молокопереробних підприємств, відходи після урожайної

діяльності та тваринництва), в яких співвідношення C:N наближається до значень 10:1 – 30:1.

5. Створено проект біометаногенної установки та розроблено технічні умови процесу переробки масових форм гідробіонтів з отриманням метану та органо-мінерального добрива. За проектовою схемою побудовано експериментальну дослідну біогазову установку на базі лабораторії екологічної біотехнології і біоенергетики Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського.

6. Досліджено застосування різних субстратів для отримання біогазової метановмісної суміші. Проведено критичний аналіз результатів теоретичних та практичних досліджень. Розроблено технічні умови щодо цільових продуктів біотехнології – біогазу та органо-мінерального добрива. Визначено оптимальне розведення дигестату (1:100), яке дає максимальний фітостимулюючий ефект для більшості видів досліджуваних рослин.

7. Розроблено математичну модель процесу біометаногенезу методом центрального композиційного рототабельного планування повного факторного експерименту ПФЕ-2 із зірковими точками та створено віртуальний комплекс технологічного процесу виробництва метану й добрива на основі моно- та мультисубстратних сумішей, в яких може бути використана як масові форми гідробіонтів, так і традиційні джерела органіки (відходи сільського та лісового господарства).

8. Виконано проект біометаногенної установки та розроблено технічні умови процесу переробки масових форм гідробіонтів з отриманням метану й органо-мінерального добрива. Розраховано техніко-економічний ефект біоконверсії органічної маси ціанобактерій, за яким економія витрат на виробництво біометану за рахунок субстрату, оскільки біомаса СЗВ є безкоштовною, становить щонайменше 42 €/т. Додатковий прибуток зумовлений сплатою відповідних підприємств за переробку їх відходів, що транспортуються до біогазових станцій муніципального користування також за рахунок власника.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. G. Robin South, Alan Whittick An Introduction to Phycology. Wiley Blackwell Scientific Publication, Oxford – London – Edinburgh, 1987. – P. 354.
2. Вдовенко Н. М. Економіка рибогосподарських підприємств. – К., Видавничий дім «Кондор», 2017. – 212 с.
3. Соціально-економічний потенціал сталого розвитку України та її регіонів: національна доповідь / за ред. акад. НАН України Е. М. Лібанової, акад. НААН України М.А. Хвесика. – К.: ДУ ІЕПСР НАН України, 2014. – 776 с.
4. Водоросли. Справочник. / Вассер С. П., Кондратьева Н. В., Масюк Н. П. и др. Киев: Наук. думка, 1989. – 608 с.
5. Никифоров В. В. Экологическая сеть Среднего Приднепровья: современное состояние и пути оптимизации: Монография. – Д.: Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2003. – 188 с.
6. Фоменко Н. В. Рекреаційні ресурси та курортологія. К.: Центр навчальної літератури, 2007. – 312 с.
7. Бобровський А. Л. Екологія поверхневих вод: Кн. 1: Гідроекосистеми основні поняття і принципи. Рівне, 2005. – 319 с.
8. Израэль Ю. А., Цыбань А. В. Антропогенная экология океана. / Л.: Гидрометеоиздат, 1989. – 528 с.
9. Синельников Д. А., Козлова Г. В. Экология. – Симферополь, «СОНАТ», 2007. – 208 с.
10. Кравченко В. С. Водопостачання та каналізація. – К., Видавничий дім «Кондор», 2003. – 288 с.
11. Фауна аэротенков. – Л., Наука, 1984. – 264 с.
12. Современная микробиология: в 2 т. / под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. М.: Мир, 2005. Т. 1-2.
13. Нетрусов А. И. Экология микроорганизмов. М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 267 с.

14. Petersen S. O., Henriksen K., Hortensen G. K., Krogh P. H. Recycling of sewage sludge and household compost to arable land: fate and effects organic contaminants and tillage Researcher. – 2003. - № 72. – P. 152
15. Oberleitner F. Basic principle guards of water resources of Austria from contamination Wastes of agricultural enterprises. Wasser und Landwirtschaft – Wasserrechtliche Grundlagen // Foorderungsdienst. – 2000. Jg. 48, H.4 (Beil.). – P. 38.
16. Аналіз процесів біоконверсії та експериментальне визначення технологічних можливостей спалювання біогазу / Є. М. Крючков, Ю. В. Куріс, А. В естеренко та ін. // Енергетика та електрифікація. – 2007. – № 1. – С. 57 – 62.
17. Nykyforov V. V., Yelizarov O. I., Lugovoy A. V., Kozlovska T. F. et al. «Nature protection and energy-resource saving technology of green-blue algae utilization in Dnieper reservoirs» Transactions of Kremenchuk Mykhailo Ostrohradskyi National University – Kremenchuk: KrNU, 2011. – № 1 (66) – P. 115–117.
18. Никифоров В. В., Козловская Т. Ф., Дегтярь С. В. Химическая биология метаногенеза сине-зеленых водорослей и положительные эффекты их утилизации. Екологічна безпека. – Кременчук, 2008. – V. 2 (2). – С. 83–91.
19. Бузовський Є. А. Нетрадиційні джерела енергії – вимоги часу / Є. А. Бузовський, О. Д. Витвицька, В. А. Скрипниченко // Наук. вісн. Нац. аграр. ун-ту. – К., 2008. – вип. 119 – С. 289 – 294.
20. Вайсман Я. И. Использование водных растений для доочистки сточных вод / Я. И. Вайсман, Л. В. Рудакова, Е. В. Калинина // Экология и промышленность России. – 2006. – №11. – С. 9 – 11.
21. Гайнріх Д., Гергт М. Екологія: dtv-Atlas: Пер. з 4-го нім. вид. Наук. ред. пер. В. В. Серебряков. – К.: Знання-Прес, 2001. – 287 с. іл.
22. Round F. E. The Ecology of Algae, Cambridge University Press, New York, 1981. – 653 pp.

23. Brock T. D. *Biology of Microorganisms*, 7th ed., London, Prentice-Hall, Inc., 1994. – 909 pp.
24. Одум Ю. Основы экологии. В 2-х т. Т. 1. М.: Мир, 1986. – 328 с.
25. Мусієнко М. М., Серебряков В. В., Брайон О. В. Екологія: Тлумачний словник. – К.: Либідь, 2004 – 550 с.
26. Бобровський А. В., Стефанишин Д. В. Термінологічний словник з надійності та безпеки гідротехнічних об'єктів. Рівне, 2005. – 223 с.
27. Мусієнко М.М. Екологія рослин. – К.: Либідь, 2006 – 432с.
28. Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn S. E. *Biology of plants*, 8th edn. W.H. Freeman/Palgrave, Missouri Botanical Garden and Washington University, St. Louis, University of Wisconsin, Madison, 2013. – 900 pp.
29. Клименко М. О., Прищепя А. М., Вознюк Н. М. Моніторинг довкілля. К.: Видавничий центр «Академія», 2006. – 360 с.
30. Горев Л. Н. Естественно-экономические основы оптимизации экосред: в 3-х кн. Кн. 2 / Горев Л. Н., Дорогунцов С. И., Хвесик М. А. – К.: Лыбидь, 1994. – 240 с.
31. Авакян А. Б., Шарапов В. А., Фортунатов М. А. и др. Водохранилища мира. – Л.: Изд-во Наука, 1979. – 288 с.
32. Алмазов А. М. Гидрохимия Днепра, его водохранилищ и притоков / Алмазов А. М., Денисова А. И., Майстренко Ю. Г. и др. – К.: Наукова думка, 1967. – 210 с.
33. Владимирова К. С. Мелководья Кременчугского водохранилища / Владимирова К. С., Зимбалева Л. Н., Пикуш Н. В. и др. – К.: Наукова думка, 1979. – 284 с.
34. Сиренко Л. А., Гавриленко М. Я. «Цветение» воды и её евтрофирование. – К.: Наук. думка, 1978. – 232 с.
35. Хижняк М. І. Методологія вивчення угруповань водних організмів / М. І. Хижняк, М. Ю. Євтушенко. – К. : Український фітосоціологічний центр, 2014. – 269 с.

36. Рыбинское водохранилище и его жизнь. / Под ред. Кузина Б. С. – Л.: Изд-во Наука, 1972. – 364 с.

37. Мальованый М. Природоохранные и энергетические аспекты биотехнологии утилизации цианобактерий как эколого-экономический императив устойчивого развития / М. Мальованый, В. Никифоров, Е. Харламова, А. Синельников // The international journal Sustainable development. – Varna, 2015. – No. 1 (22). – PP. 4–9.

38. Никифоров В. В., Козловська Т. Ф. Хіміко-токсикологічні проблеми підготовки питної води при дії екстремальних природних чинників. / Вісник КДПУ. – Кременчук, 2002. – Вип. 5 (16). – С. 109–110.

39. Сиренко Л. А. Биологически активные вещества водорослей и качество воды / Сиренко Л. А., Козицкая В. Н. – К.: Наукова думка, 1988. – 256 с.

40. Никифоров В. В. Гидробионты как новый субстрат для получения клар-газа / В. В. Никифоров, Т. Ф. Козловская, С. В. Дегтярь // Екологічна безпека. – 2008. – № 3 (3). – С. 28–30.

41. Дігтяр С. Експериментальний синтез біогазу на основі біомаси ціаней / С. Дігтяр, А. Пасенко, Д. Пасенко // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Екологія і природокористування в системі оптимізації відносин природи і суспільства». – Тернопіль, 2016. – С. 262.

42. Водний фонд України: Штучні водойми – водосховища і ставки: Довідник / В.В. Гребінь, В. К. Хільчевський, В. А. Сташук, О. В. Чунарьов, О. Є. Ярошевич / За ред. В. К. Хільчевського, В. В. Гребеня. – К.: «Інтер-прес ЛТД», 2014. – 164 с.

43. Вишневський В. І., Сташук В. А., Сакевич А. М. Водогосподарський комплекс у басейні Дніпра. – К.: Інтерпрес ЛТД, 2011. – 188 с.

44. Вишневський В. І. Річки і водойми України. Стан і використання. – К.: Віпол, 2000. – 376 с.

45. Гидрология и гидрохимия Днестра и его водохранилищ. / А. И. Денисова, В. М. Тимченко, Е. П. Нахшина и др. – К.: Наукова думка, 1989. – 216 с.
46. Загальна гідрологія. / За ред. В.К. Хільчевського, О. Г. Ободовського. – 2-е вид., доп. – К.: ВПЦ «Київський університет», 2008. – 399 с.
47. Географічна енциклопедія України: в 3-х томах. Т. 2 / Маринич О. М., ред. – Київ: Укр. Рад. Енцикл., 1989. – 480 с.
48. Бондаренко Л. М., Иванов М. С., Коваль Ю. Д., Пичахчи И. Д. Источники поступления и масштабы возможного выноса биогенных элементов в водные объекты. – В кн. Формирование и контроль качества поверхностных вод. Вып. 3., К.: 1976. – с. 88 – 95.
49. Карпенко К. К., Тюленева В. О., Вакал А. П. та ін. Гідрологічні заказники в заплаві р. Сула на Сумщині // Стан природного середовища та проблеми його охорони на Сумщині. – Суми: Джерело, 2001. – С. 86–98.
50. Никифоров В. В., Козловская Т. Ф. Химико-биологические причины ухудшения качества природной воды. // Вісник КДПУ. – Кременчук, 2002. – Вип. 6 (17). – С. 82-85.
51. Никифоров В. В., Авраменко А. Є. Характеристика сучасного стану якості підземних і поверхневих вод південної частини Полтавської області. // Вісник КрНУ – Кременчук: КрНУ, 2014 – Випуск 1 (84). С. 179-183.
52. Дігтяр С. В. Проблема «цвітіння» верхів'я Дніпродзержинського водосховища та шляхи її вирішення. // Вісник проблем біології і медицини, – Полтава, 2006/07. – №4. – С.28 – 30
53. Жданова Г. А., Щербак В. И., Головкин Т. В. Трофические взаимоотношения в планктоне Киевского водохранилища // Трофические связи и их роль в продуктивности природных водоемов. – Л., 1983. – С. 69-75.
54. Экологическая физиология водных организмов / С. Н. Скадовский. – М: Советская наука, 1955. – 338 с.

55. Изменения в природных биологических системах / В. Д. Фёдоров. – М.: Изд-во «РАГС», 2004. – 366 с.
56. Применение методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов / В. Н. Максимов, В. Д. Фёдоров. – М.: Изд-во МГУ, 1969. – 128 с.
57. Зеров К. К. Формирование растительности и зарастание водохранилищ днепровского каскада. – Киев: Наук. думка, 1976. – 140 с.
58. Беспозвоночные и рыбы Днепра и его водохранилищ / Зимбалева Л. Н., Сухойван П. Г., Черногоренко М. И. и др.; отв. ред. Щербак Г. И. – К.: Наук. думка, 1989. – 248 с.
59. Булахов В. Л., Новицький Р. О., Пахомов О. Є., Христов О. О. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Круглороті (*Cyclostomata*). Риби (*Pisces*) // За загальн. ред. проф. О. Є. Пахомова. – Д. Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2008. – 304 с.
60. Новицкий Р. А. К вопросу об инвазии чужеродных видов в фауну днепровских водохранилищ // Чужеродные виды в Голарктике (Борок-2): тезисы II Междунар. симпозиума (Борок, 27 сентября – 1 октября 2005 года). – Борок, 2005. – С. 35–36.
61. Пасторек З. Производство биогаза из смеси органических материалов / З. Пасторек, Я. Кара, Н. К. Линник, Г. А. Голуб, В. С. Таргоня // Науковий вісник НУБІП України. – 2006. Вип. 95. – Ч.1. – С. 144 – 149.
62. Баадер В. Биогаз. Теория и практика / В. Баадер, Е. Доне, М. Бренидерферу. – М.: Колос. – 1982. – 148 с.
63. Аналіз процесів біоконверсії та експериментальне визначення технологічних можливостей спалювання біогазу / Є. М. Крючков, Ю. В. Куріс, А. В. Нестеренко / Енергетика та електрифікація. – 2007. – №1. – С. 57 – 62.

64. Аэрационное оборудование для биологической очистки сточных вод в аэротенках // Евилевич М. А., Брагинский Л. Н., Прицкер Б. С., Шраер М. Я. – М.: ВНИИПЭЧлеспром, 1969, 53 с.
65. Байдевятов Ю. А. Технологія переробки посліду у промисловому птахівництві / Ю. А. Байдевятов // Вісник аграрної науки. – 2002. – №5. – С. 55 – 56.
66. Бацула О. О. Використання відходів птахівництва у сільськогосподарському виробництві / О. О. Бацула, Є. В. Скрильник, Р. А. Розумна // Вісник аграрної науки. – 2000. – №7. – С. 14 – 17.
67. Бекер М. Е. Биотехнология / М. Е. Бекер, Г. К. Лиепиньш, Е. П. Райпулис. – Пер. с англ. – М.: Агропромиздат, 1990. – 334 с.
68. Ружинська Л. І., Баранова І. Г. Модель процесу анаеробного очищення стічної води в біореакторі з листовими нерухомими носіями іммобілізованої мікрофлори. // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2009. – №2. – С. 84 – 88.
69. Sasson A. Biotechnologies: Challenges and Promises. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, Paris, 1984. – 315 p.
70. Айрес Рейгел М. Анализ сточных вод для сельскохозяйственного использования. – М.: Медицина; Женева: ВОЗ 1999. – 34 с.
71. Баранников В. А. Охрана окружающей среды в зоне промышленного животноводства. – М.: Медицина; Россельхозиздат. 1985. – 118 с.
72. Борисенко Е. Г. Биотрансформация жидких навозных стоков промышленных свинооткормочных комплексов / Е. Г. Борисенко // Биоконверсия: тез. докл. Всесоюз. симп. – Рига. – 1982. – Т.2. – С. 180.
73. Вавилин В. А. Время оборота биомассы и деструкция органического вещества в системах биологической очистки / В. А. Вавилин. – М.: Наука, 1986. – 144 с.

74. Вавилин В. А. Математическое моделирование процессов биологической очистки сточных вод активным илом / В. А. Вавилин, В. В. Васильев. – М.: Наука, 1979. – 119 с.
75. Витковская С. Е. Изменение содержания подвижных форм химических элементов в технологии трансформации органического вещества компоста // Агрохимия. – 2005. – №4. – С. 27 – 31.
76. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / кол. авт.; под ред. Д. Г. Хоулт (биология), Н. Криг, П. Снит, Дж. Стейли, С. Уильямс. – М.: Мир, 1997.
77. Шлегель Г. Г. Общая микробиология (Allgemeine Mikrobiologie) : пер. с немецкого / Г. Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987. – 566 с.
78. Борисов Л. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. – 4-е изд., доп. и перераб. – М.: Медицинское информационное агентство, 2005. – 734 с.
79. Малый практикум по ботанике. Водоросли и грибы / Т. Н. Барсукова, Г. А. Белякова. В. П. Прохоров, К. Л. Тарасов. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 240 с.
80. Лемеза Н. А. Альгология и микология. Практикум: / Н. А. Лемеза – Мн.: Высшая школа, 2008. – 200 с.
81. Malovanyu M. Mathematical model of the process of synthesis of biogas from blue-green algae / M. Malovanyu, V. Nykyforov, O. Kharlamova, O. Synelnikov // Ecological Safety. – 2015. – № 1 (19). – PP. 58–63.
82. Королев С. А. Исследование стационарных решений и оптимизации параметров математической модели метаногенеза / С. А. Королев, Д. В. Майков, И. Г. Русяк // Вестник Томского государственного университета. Серия Математика и механика. – 2012. – № 3 (19). – С. 15–21.
83. Дворецкий Д. С. Компьютерное моделирование биотехнологических процессов и систем / Дворецкий Д. С., Дворецкий С. И.,

Муратова Е. И., Крмаков А. А. – Тамбов: Издательство Томского государственного технического университета, 2005. – 80 с.

84. Губачов О. І. Особливості використання рослин для біотестування ґрунтів з метою визначення рівня екологічної безпеки промислових територій // Наук. вісн. КУЕІТУ. Нові технології. – 2010. – № 3 (29). – С. 164–171.

85. Еремченко О. З., Москвина Н. В., Шестаков И. Е., Швецов А. А. Использование тест-культур для оценки экологического состояния городских почв // Вестник ТГУ. – 2014. – Т.19, Вып.5. – С. 1280 – 1284.

86. Державні санітарні правила і норми «Вода питна. Гігієнічні вимоги до якості води централізованого господарсько-питного водопостачання» №136/1940-96.

87. ДСТУ ISO 5667-2:2003. Якість води. Відбирання проб. Частина 2. Настанови щодо методів відбирання проб

88. Проценко І. Ю., Чорноус А. М., Проценко С. І. Прилади і методи дослідження плівкових матеріалів. / За загальною редакцією проф. І. Ю. Проценка: Суми: Вид-во СумДУ, 2007. – 264 с.

89. Перекрестов В.І. Практичні методи електронної мікроскопії. Суми: Вид-во СумДУ, 2014. – 241 с.

90. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин. – К.: Либідь, 2005. – 808 с.

91. Приймаченко А. Д. Фитопланктон и первичная продукция Днепра и днепровских водохранилищ / А. Д. Приймаченко. – К.: Наукова думка, 1981. – 278 с.

92. Пасенко А. В. Основні підходи до математичного моделювання біологічної продуктивності ціаней як сировинної бази біоконверсії / А. В. Пасенко, О. В. Новохатько, Т. Ф. Козловська, С. В. Дігтяр, О. О. Никифорова//Екологічна безпека. – 2016. – № 2/2016 (22). – С. 118–127.

93. Шарафутдинова Г. Ф. Первичная продукция, как важный параметр мониторинга поверхностных вод, на примере озер Карельского перешейка / Г. Ф. Шарафутдинова // Известия Российского государственного

педагогического университета им. А. И. Герцена. – СПб.: РГПУ им. А. И. Герцена, 2012. – № 153 (2). – С. 129–134.

94. Трифонова И. С. Влияние климатических изменений и эвтрофирования на динамику планктонных популяций мезотрофного озера / И. С. Трифонова. – СПб., 2003. – 123 с.

95. Hoiczky E. Cyanobacterial cell walls: news from an unusual prokaryotic envelope / E. Hoiczky, A. Hansel // *Journal of bacteriology*. – 2000. – Vol. 82, № 5. – PP. 1191–1199.

96. Хижняк М. І. Методологія вивчення угруповань водних організмів / М. І. Хижняк, М. Ю. Євтушенко. – К. : Український фітосоціологічний центр, 2014. – 269 с.

97. Щербак В. І. Методи досліджень фітопланктону / В. І. Щербак // Методичні основи гідробіологічних досліджень водних екосистем. – К., 2002. – С. 41–47.

98. Nykyforov V. The biotechnological ways of blue-green algae complex processing / Nykyforov V., Malovanyy M., Kozlovs'ka T., Novokhatko O., Digtiar S. // *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. – 2016. – No. 5/10 (83). – PP. 11–18.

99. Шелутко В. А. Методы обработки и анализа гидрологической информации / В. А. Шелутко. – СПб., 2007. – 192 с.

100. Лаврик В. І. Методи математичного моделювання в екології / В. І. Лаврик. – К.: Видавничий дім «КМ Академія», 2002. – 203 с.

101. Авдин В. В. Математическое моделирование экосистем / В. В. Авдин. – Челябинск: Изд-во ЮУрГУ, 2004. – 80 с.

102. Sahm: Biologieder Methanbildung // *Chem.-Ing. Tech.* – 1981. – Vol. 53, № 11. – S. 854–863.

103. Гігієна та біоферментація побічних продуктів тваринництва [монографія] / Захаренко М. О., Яремчук О. С., Шевченко Л. В., Поляковський В. М, Михальська В. М., Малюга Л. В., Іванова О. В. – К.: «Центр учбової літератури», 2017. – 536 с.

104. Эпов А. Н. Очистка сточных вод. – Свиноводство промышленное и племенное. – 2005. – № 5. С. 32 – 34.
105. Таргоня В. С. Перспективы використання біотехнологічних альтернатив для вирощування біологічної продукції в гідропонних установках. / В. С. Таргоня // Техніка і технології АПК. – 2010. – № 8 (11). – С. 4 – 7.
106. Таргоня В. С. Екологічні проблеми функціонування тваринницьких комплексів / В. С. Таргоня, В. Ясенецький, В. Клименко, В. Яворів // Техніка і технології АПК. – 2010. – № 11 (14). – С. 25 – 28.
107. Тен Хак Мун Экологические технологии: компостирование органических отходов / Тен Хак Мун, О. А. Кириенко // Инженерная экология, 2007. – №5. – С. 16 – 19.
108. Практические рекомендации по устройству системы утилизации навоза на свинофермах // Новое сельское хозяйство. – 2009. – №4. – С. 78 – 81.
109. Digtiar S. Qualitative and quantitative characteristics of biogas of cyanea organic mass / Environmental Problems. Lviv Polytechnic Publishing House, 2016, – V. 1 № 2 (2) – P. 149 – 153.
110. Титко Р. Відновлювальні джерела енергії / Титко Р., Калініченко В. – Варшава-Краків-Полтава, 2010. – 533 с.
111. Magdalena Rogulska «Stan obecny i kierunki rozwoju energetycznego wykorzystania biomasy w Polsce»: referat z konferencji «Zrównoważone systemy energetyczne», 12–14.10.2005, Zakopane.
112. Перегудов С. Эффективная технология переработки навоза / С. Перегудов // Животноводство России. – 2007. – №10. – С. 37.
113. Никольский К. С. Влияние смеси навозосодержащих сточных вод с активным илом на процесс компостирования и свойства компостов / К.С. Никольский // Агрохимический вестник. – 2009. – №6. – С. 14 – 15.
114. Никифорова Л. О. Очистка и обеззараживание сточных вод птицефабрик / Л. О. Никифорова // Химическая технология. – 2003. – №9. – С. 33 – 37.

115. ДБН В.2.5 – 20 – 2001 «Інженерне обладнання будинків та споруд. Зовнішні мережі та споруди газопостачання», К., 2001. 192 с.
116. ГОСТ 4784 – 97 Алюминий и сплавы алюминиевые и деформируемые. Марки (с Изменениями № 1, 2, 3, с Поправками)
117. ГОСТ 2405 – 88. Манометры, вакуумметры, мановакуумметры, напоромеры, тягомеры и тягонапоромеры. Общие технические условия. – http://online.budstandart.com/ru/catalog/doc-page?id_doc=61744 [інтернет ресурс].
118. ДСТУ 2275-93 Енергозбереження. Нетрадиційні та поновлювані джерела енергії. Терміни та визначення
119. Закон України «Про відходи»
120. ДБН В.2.4-2-2005 Полігони твердих побутових відходів. Основні положення проектування. Закон України «Про охорону навколишнього середовища»
121. Закон України «Про охорону атмосферного повітря»
122. Закон України «Про благоустрій населених пунктів»
123. Закон України «Про альтернативні джерела енергії»
124. Закон України «Про комбіноване виробництво теплової та електричної енергії (когенерацію) та використання скидного енергопотенціалу»
125. ДСТУ ISO 10715:2009 Природний газ. Настанови щодо відбирання проб (ISO 10715-2:1997, IDT)
126. ГОСТ 12.1.007-76*ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (Шкідливі речовини. Класифікація та загальні вимоги безпеки)
127. ГОСТ 12.1 044-89 ССБТ. Пожаровзрывоопасность веществ и материалов (ССБП. Пожежовибухонебезпека речовин і матеріалів)
128. ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны (ССБП. Загальні санітарно-гігієнічні вимоги до повітря робочої зони)

129. НАПБ А.01.001-2004 Правила пожежної безпеки в Україні

130. Наказ Комітету по нагляду за охороною праці Міністерства праці та соціальної політики України від 09.01.1998 № 4, зареєстрований у Мін'юсті України 10.02.1998 за № 93/2533 «Про затвердження Правил безпечної експлуатації електроустановок споживачів» (НПАОП 40.1-1.21-98)

131. Наказ Комітету по нагляду за охороною праці Міністерства праці та соціальної політики України від 29.01.1998 № 112, зареєстрований у Мін'юсті України 07.04.1998 за № 226/2666, «Про затвердження Положення про розробку інструкцій з охорони праці» (НПАОП 0.00-4.15-98)

132. Наказ Державного комітету України з нагляду за охороною праці від 26.01.2005 № 15, зареєстрований у Мін'юсті України 15.02.2005 за № 231/10511 «Про затвердження Типового положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці та переліку робіт з підвищеною небезпекою» (НПАОП 0.00-4.12-05)

133. Наказ Державного комітету України з промислової безпеки, охорони праці та гірничого нагляду від 24.03.2008 № 53, зареєстрований у Мін'юсті України 21.05.2008 за № 446/15137 «Про затвердження Положення про забезпечення працівників спеціальним одягом, спеціальним взуттям та іншими засобами індивідуального захисту» (НПАОП 0.00-4.01-08)

134. ГОСТ 12.4.124-83 ССБТ. Средства защиты от статического электричества. Общие технические требования (ССБП. Засоби захисту від статичної електрики. Загальні технічні вимоги)

135. НПАОП 0.00-1.14-70 Правила будови і безпечної експлуатації поршневих компресорів, що працюють на вибухонебезпечних і токсичних газах.

136. НПАОП 0.00-1.07-940 Правила будови і безпечної експлуатації посудин в, що працюють під тиском.

137. НПАОП 0.00-1.18-98 Правила будови, виготовлення, монтажу, ремонту і безпечної експлуатації вибухозахищених вентиляторів.

138. Наказ Комітету по нагляду за охороною праці Міністерства праці та соціальної політики України від 17.06.1999 № 112, зареєстрований у Мін'юсті України 30.06.1999 за № 424/3717 «Про затвердження Положення щодо розробки планів локалізації та ліквідації аварійних ситуацій і аварій» (НПАОП 0.00-4.33-99)

139. ДСТУ 4533:2006 Птахівництво. Терміни та визначення понять. Київ, 2006. 42 с.

140. ДСТУ 4884:2007 Добрива органічні та органо-мінеральні. Терміни та визначення понять. Київ, 2007. 38 с.

141. ДСТУ EN 12944-2:2005 Добрива, вапнувальні матеріали та меліоранти ґрунту. Словник термінів. Частина 2. Терміни стосовно добрив (EN 12944-2:1999, IDT). Київ, 2019. 14 с.

142. СНиП 2.04.03 Канализация. Наружные сети и сооружения. М., 1985. 135 с.

143. ГОСТ 26712-94 Удобрения органические. Общие требования к методам анализа (Добрива органічні. Загальні вимоги до методів аналізу)

144. ДСТУ EN 12048-2:2005 Добрива, тверді та вапнувальні вапнувальні матеріали та меліоранти ґрунту. Визначення вмісту вологи гравіметричним методом. Висушування за температури $(105 \pm 2) ^\circ\text{C}$ (EN 12048-1996, IDT) Київ, 2004. 13 с.

145. ГОСТ 26713-85 Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка (Добрива органічні. Методи визначення вологи і сухого залишку)

146. ГОСТ 26714-85 Удобрения органические. Методы определения золы (Добрива органічні. Методи визначення золи)

147. ГОСТ 27979-88 Удобрения органические. Методы определения pH (Добрива органічні. Методи визначення pH)

148. ГОСТ 27980-88 Удобрения органические. Методы определения органического вещества (Добрива органічні. Методи визначення органічної речовини)

149. ГОСТ 26715-85 Удобрения органические. Методы определения общего Нітрогена (Добрива органічні. Методи визначення загального Нітрогену)

150. ДСТУ ISO 4176:2003 Добрива. Визначення вмісту нітратного Нітрогену. Ваговий метод із застосуванням нітрону (ISO 4176:1981, IDT)

151. ДСТУ ISO 5318:2003 Добрива. Визначення вмісту калію. Ваговий метод з застосуванням тетрафенілборату калію (Контрольний метод) (ISO 5318:1983, IDT)

152. ГОСТ 12.3.009-76 ССБТ. Процессы производственные. Общие требования безопасности (ССБП. Процеси виробничі. Загальні вимоги безпеки)

153. ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (ССБП. Шкідливі речовини. Класифікація і загальні вимоги безпеки)

154. СанПиН № 4630 – 88 Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения. М., 1988. 59 с.

155. ГОСТ 17.2.3.01-86 Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населённых пунктов (Охорона природи. Атмосфера. Правила контролю якості повітря населених пунктів)

156. ДСП – 201 – 97 Державні санітарні правила охорони атмосферного повітря населених місць (від забруднення хімічними та біологічними речовинами)

157. СанПиН 42-128-4690-88 Санитарные правила содержания территорий населённых мест. М., 1988. 22 с.

158. Ахунов А. А. Биологическая очистка сточных вод с одновременной комплексной переработкой полученной биомассы – важное направление биотехнологии микроводорослей / А. А. Ахунов, С. Б. Буриев, Х. Х. Ахундов // Фотосинтез и фотобиотехнология: Тезисы докл. и сообщ. Междунар. конф. Пушино, 165-23 июня 1991.–Пушино, 1991.– С. 455.

159. Вайсман Я. И. Использование водных растений для доочистки сточных вод / Я. И. Вайсман, Л. В. Рудакова, Е. В. Калинина // Экология и промышленности России. – 2006. – №11. С. 9 – 11
160. Владимирова М. Г. Интенсивная культура одноклеточных водорослей / М. Г. Владимирова, В. Е. Семененко. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 139 с.
161. Гвоздяк П. За принципом біоковееера / П. Гвоздяк // Біотехнологія охорони довкілля // Вісник НАН України.–2003.–№3.–С.29–36.
162. Вербицький П. І. Утилізація відходів тваринного походження в Україні / П. І. Вербицький // Тваринництво України.–2008.–№5. С.2–4.
163. Грицаєнко Л. В. Біотехнологія використання тваринницьких відходів // Л. В. Грицаєнко // Наук.-техн. бюл. УААН. Ін-т тваринництва. – Х., 2003. – С. 49 – 51.
164. Grima M. E. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics / M.E. Grima, E.H.Belarbi, F.G.A.Fernandez, A.R.Medina, Y.Chisti // Biotechnology Advance. – 2003. – №20(7–8). – P.491–515.
165. Weissman J.C. Design and analysis of microalgal open pond systems for the purpose of producing fuels: a subcontract report / J.C.Weissman, R.P.Goebel. – US DOESERI, 1987. – 456 p.
166. Richmond A. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology / A. Richmond. – Blackwell Science Ltd, 2004. – 322p.
167. Mata Teresa M. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review / Teresa M. Mata, Antonio A. Martins, Nidia. S. Caetano // Renewable and Sustainable Energy Reviews, Vol. 14(1), 2010. – P.217-232.
168. Cravotto G. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. / G.Cravotto, L.Boffa, S.Mantegna, P.Perego, M.Avogadro, P.Cintas //Ultrasonics Sonochemistry.–2008.–№15 (5). – P.898–902.

169. Bozbas K. Biodiesel as an alternative motor fuel: production and policies in the European Union/K.Bozbas //Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2008. – №12. – P. 542–552.
170. ДСТУ 2272:2006 «Пожежна безпека. Терміни та визначення»
171. Правила пожежної безпеки в Україні
172. Наказ Міністерства внутрішніх справ України № 1417 від 30.12.2014 Про затвердження Правил пожежної безпеки в Україні.
173. ДНАОП 0.00 – 1.07 – 94 «Правила будови та експлуатації посудин, що працюють під тиском»
174. Меншуткин В. В. Искусство моделирования (экология, физиология, эволюция) / В. В. Меншуткин. – Петрозаводск–Санкт-Петербург, 2010. – 416 с.
175. Марценюк О. С., Мельник Л. М. Процеси і апарати харчових виробництв. Київ, 2011. 407 с.
176. Гігієна та біоферментація побічних продуктів тваринництва: монографія / М. О. Захаренко та ін. Київ, 2017. 536 с.
177. Дьяков Ю. Т. Введение в альгологию и микологию / Ю. Т. Дьяков. – М.: Изд-во МГУ, 2000. – 205 с.
178. Алешукина А. В. Медицинская микробиология. / А. В. Алешукина. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. – 473 с.
179. ДСТУ ISO 6327:2004 Аналіз газів. Визначення точки роси природних газів. Конденсаційні гігрометри з охолоджуваною поверхнею (ISO 6327:1981, IDT)
180. ДСТУ ISO 6974-1:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 1. Настанови щодо спеціалізованого аналізування (ISO 6974-1:2000, IDT)
181. ДСТУ ISO 6974-1:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 2. Характеристики вимірювальної системи і статистичне оброблення даних (ISO 6974-2:2001, IDT)

182. ДСТУ ISO 6974-3:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 3. Визначення Гідрогену, Гелію, Оксигену, Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів до C8 із використанням двох насадкових колонок (ISO 6974-3:2000, IDT)

183. ДСТУ ISO 6974-4:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 4. Визначення Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів від C1 до C5 та C6+ для лабораторного та потокового процесу із використанням двох колонок (ISO 6974-4:2000, IDT)

184. ДСТУ ISO 6974-5:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 5. Визначення Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів від C1 до C5 та C6+ для лабораторного та потокового процесу із використанням трьох колонок (ISO 6974-5:2000, IDT)

185. ДСТУ ISO 6974-6:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 6. Визначення Гідрогену, Гелію, Оксигену, Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів від C1 до C8 із використанням трьох капілярних колонок (ISO 6974-3:2000, IDT)

186. ДСТУ ISO 6974-6:2007 Природний газ. Обчислення теплоти згоряння, густини, відносної густини і числа Воббе на основі компонентного складу (ISO 6976-1995/Cor.2:1997, Cor 3:1999, IDT)

187. ДСТУ ISO 10101-1:2007 Природний газ. Визначення вмісту води методом Карла Фішера. Частина 1. Вступ (ISO 10101-1:1993, IDT)

188. ДСТУ ISO 10101-2:2007 Природний газ. Визначення вмісту води методом Карла Фішера. Частина 2. Методика титрування (ISO 10101-2:1993, IDT)

189. ДСТУ ISO 10101-3:2007 Природний газ. Визначення вмісту води методом Карла Фішера. Частина 3. Методика кулонометричного визначення (ISO 10101-3:2007, IDT)

190. НПАОП 0.00-1.41-88 Загальні правила вибухобезпеки для вибухопожежонебезпечних хімічних, нафтохімічних і нафтопереробних виробництв.

191. НПАОП 0.00-1.29-97 Правила захисту від статичної електрики.

192. ГОСТ 22387.4-77 Газ для коммунально-бытового потребления. Метод определения содержания смолы и пыли (Газ для комунально-побутового призначення. Метод визначення вмісту смоли та пилу)

193. ГОСТ 22387.2-83 Газы горючие природные. Методы определения сероводорода и меркаптановой серы (Гази горючі природні. Методи визначення сірководню та меркаптанової сірки)

194. ДСТУ ISO 5310:2003 Добрива. Визначення вмісту калію. Титриметричний метод (ISO 5310:1986, IDT)

195. ГОСТ 17.4.4.02-84 Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа (Охорона природи. Ґрунти. Методи відбору і підготовки проб для хімічного, бактеріологічного, гельмінтологічного аналізу)

196. ГОСТ 21560.0-82 Удобрения минеральные. Методы отбора и подготовки проб (Добрива мінеральні. Методи відбору і підготовки проб)

197. ГОСТ 26717-85 Удобрения органические. Методы определения общего фосфора (Добрива органічні. Методи визначення загального фосфору)

198. ГОСТ 26718-85 Удобрения органические. Методы определения общего калия (Добрива органічні. Методи визначення загального калію)

199. ДСТУ 2569-94 Водопостачання і каналізація. Терміни та визначення

200. ДСТУ 3803-98 Біотехнологія. Терміни та визначення

201. ГОСТ 2.601-95 ЕСКД. Эксплуатационные документы (Експлуатаційні документи)
202. ГОСТ 9.014-78 ЕСЗКС. Временная противокоррозионная защита изделий. Общие требования (Тимчасовий протикорозійний захист виробів. Загальні вимоги)
203. ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны (ССБП. Загальні санітарно-гігієнічні вимоги до повітря робочої зони)
204. ГОСТ 12.2.007.0-75 ССБТ. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности (Вироби електротехнічні. Загальні вимоги щодо безпеки)
205. ГОСТ 12.4.009-83 ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание (Пожежна техніка для захисту об'єктів. Основні види. Розташовування та обслуговування)
206. ГОСТ 12.4.026-76 ССБТ. Цвета сигнальные и знаки безопасности (Кольори сигнальні та знаки безпеки)
207. ГОСТ 14.201-83 Обеспечение технологичности конструкции изделий. Общие требования (Забезпечування технологічності конструкції виробів. Загальні вимоги)
208. ГОСТ 17.1.3.13-86 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране поверхностных вод от загрязнения (Охорона природы. Гидросфера. Загальні вимоги до охорони поверхневих вод від забруднювання)
209. ГОСТ 20.39.108-85 Комплексная система общих технических требований. Требования по эргономике, обитаемости и технической эстетике. Номенклатура и порядок выбора (Комплексна система загальних технічних вимог. Вимоги щодо ергономіки, населеності та технічної естетики. Номенклатура та порядок вибирання)

210. ГОСТ 27.003-90 Надежность в технике. Состав и общие правила задания требований по надежности (Надійність у техніці. Склад та загальні правила задання вимог щодо надійності)

211. ГОСТ 2226-88 (ИСО 6590-1-83, ИСО 7023-83) Мешки бумажные. Технические условия (Мішки паперові. Технічні умови)

212. ГОСТ 9238-83 Габариты приближения строений и подвижного состава железных дорог колеи 1 520 (1 524) мм (Габариты наближення споруд і рухомого складу колії 1 520 (1 524) мм)

213. ГОСТ 12969-67 Таблички для машин и приборов. Технические требования (Таблички для машин і приладів. Технічні умови)

214. ГОСТ 12971-67 Таблички прямоугольные для машин и приборов. Размеры (Таблички прямокутні для машин і приладів. Розміри)

215. ГОСТ 14192-96 Маркировка грузов (Маркування вантажів)

216. ГОСТ 15150-69 Машины, приборы и другие технические изделия. Исполнения для различных климатических районов. Категории, условия эксплуатации, хранения и транспортирования в части воздействия климатических факторов внешней среды (Машины, прилади й інші технічні вироби. Виконання для різних кліматичних районів. Категорії, умови експлуатації, зберігання та транспортування в частині впливу кліматичних чинників зовнішнього середовища)

217. ГОСТ 17811-78 Мешки полиэтиленовые для химической продукции. Технические условия (Мішки поліетиленові для хімічної продукції. Технічні умови)

218. ГОСТ 24297-87 Входной контроль продукции. Основные положения (Вхідний контроль продукції. Основні положення)

219. ГОСТ 24444-87 Оборудование технологическое. Общие требования монтажной технологичности (Устаткування технологічне. Загальні вимоги щодо монтажної технологічності)

220. ГОСТ 26074-84 Навоз жидкий. Ветеринарно-санитарные требования к обработке, хранению, транспортированию и использованию

(Гній рідкий. Ветеринарно-санітарні вимоги щодо обробляння, зберігання, транспортування та використання)

221. ГОСТ 26712-94 Удобрения органические. Общие требования к методам анализа (Добрива органічні. Загальні вимоги щодо методів аналізу)

ДОДАТКИ

Додаток А

ISO 6341:1996 MOD
ДСТУ 4173:2003

ПРОТОКОЛ

визначення гострої токсичної дії води на ракоподібних *Daphnia magna*

проба №1

р. Дніпро, 20.06.2017, 12:15

(назва проби, адреса, дата і час відбору)

Дата проведення біотестування: 21.06.2017. Тривалість біотестування: 24 год. Вік тест-об'єкту: 24 год.

	Концентрація розчиненого кисню, мг/дм ³	Число живих особин, екземпляри										Середнє арифметичне число живих особин, екземпляри	Число загинув особин по відношенню до контролю, %	Завдає / не завдає гострої токсичної дії
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	≥7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	0	не завдає гострої токсичної дії
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Тест	≥7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9,6	3,3	не завдає гострої токсичної дії
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			

Середня летальність тест-об'єктів 3,3 %Тестування виконав: _____ / Дігтяр Сергій Вікторович
(підпис) (прізвище, ім'я, по батькові)Тестування перевірів: _____ / Никифоров Володимир Валентинович
(підпис) (прізвище, ім'я, по батькові)

ISO 6341:1996 MOD
ДСТУ 4173:2003

ПРОТОКОЛ

визначення гострої токсичної дії води на ракоподібних *Daphnia magna*
проба №1

р. Дніпро, 20.07.2017, 12:00

(назва проби, адреса, дата і час відбору)

Дата проведення біотестування: 21.07.2017. Тривалість біотестування: 24 год. Вік тест-об'єкту: 24 год.

	Концентрація розчиненого кисню, мг/дм ³	Число живих особин, екземпляри										Середнє арифметичне число живих особин, екземпляри	Число загиблих особин по відношенню до контролю, %	Завдає / не завдає гострої токсичної дії
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	≥7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	0	не завдає гострої токсичної дії
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Тест	≥7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	9,0	10,0	не завдає гострої токсичної дії
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—			
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—			

Середня летальність тест-об'єктів 10,0 %

Тестування виконав: _____ / Дігтяр Сергій Вікторович
(підпис) (прізвище, ім'я, по батькові)

Тестування перевірів: _____ / Никифоров Володимир Валентинович
(підпис) (прізвище, ім'я, по батькові)

ISO 6341:1996 MOD
ДСТУ 4173:2003

ПРОТОКОЛ

визначення гострої токсичної дії води на ракоподібних *Daphnia magna*
проба №1

р. Дніпро, 20.08.2017, 12:10

(назва проби, адреса, дата і час відбору)

Дата проведення біотестування: 21.08.2017. Тривалість біотестування: 24 год. Вік тест-об'єкту: 24 год.

	Концентрація розчиненого кисню, мг/дм ³	Число живих особин, екземпляри										Середнє арифметичне число живих особин, екземпляри	Число загиблих особин по відношенню до контролю, %	Завдає / не завдає гострої токсичної дії
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Контроль	≥7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	0	не завдає гострої токсичної дії
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Тест	≥7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9,3	6,6	не завдає гострої токсичної дії
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—			
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	—			

Середня летальність тест-об'єктів 6,6 %

Тестування виконав: _____ / Дігтяр Сергій Вікторович
(підпис) (прізвище, ім'я, по батькові)

Тестування перевірів: _____ / Никифоров Володимир Валентинович
(підпис) (прізвище, ім'я, по батькові)



(11) **24106**(19) **UA**(21) Номер заявки: **u 2006 11928**(22) Дата подання заявки: **13.11.2006**(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.06.2007**(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: **25.06.2007, Бюл. № 9**

(72) Винахідники:

Луговий Анатолій Васильович (UA),**Слізаров Олександр Іванович (UA),****Никифоров Володимир****Валентинович (UA),****Дігтяр Сергій Вікторович (UA)**

(73) Власник:

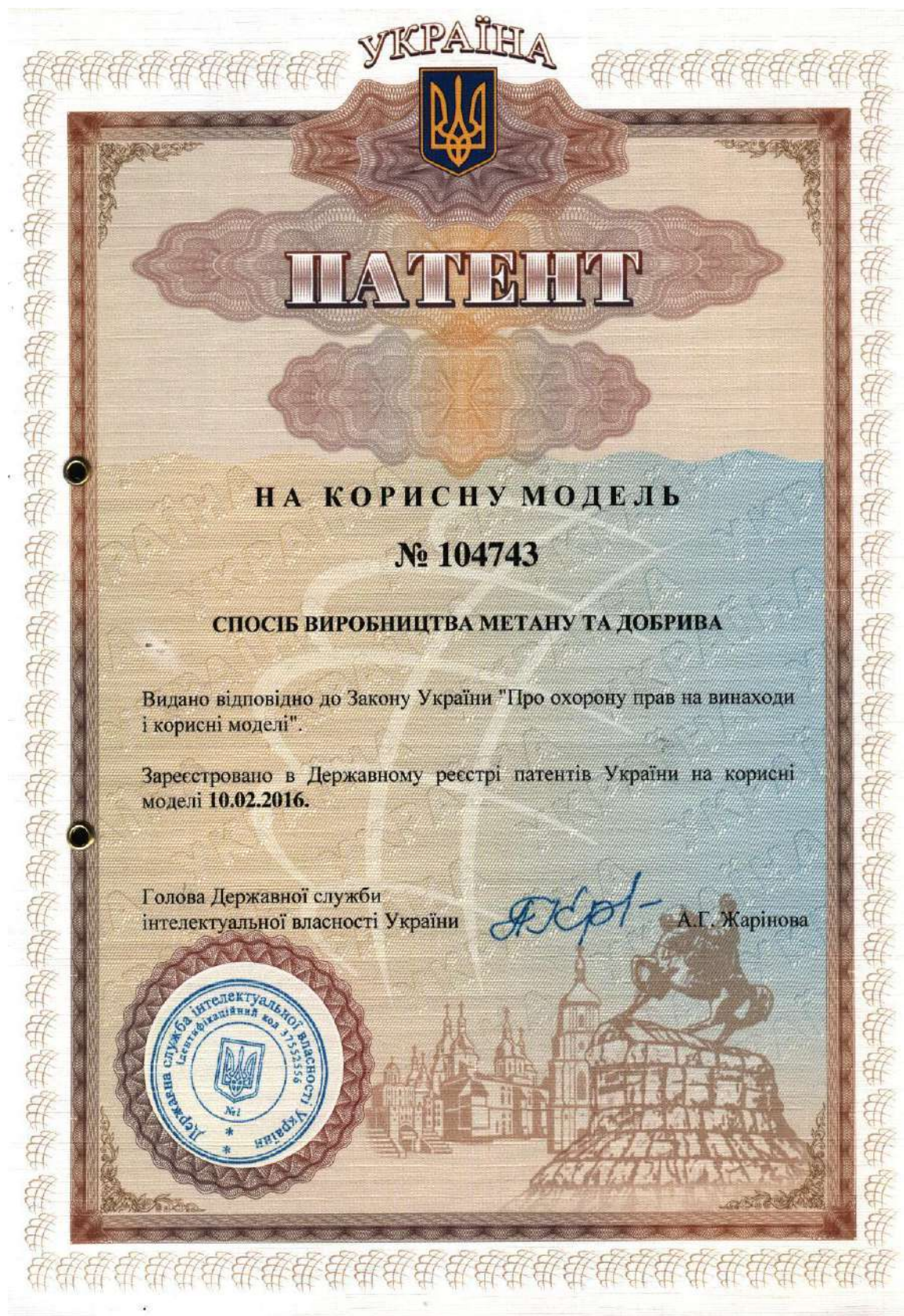
Кременчуцький державний**політехнічний університет,****вул. Першотравнева, 20, м.****Кременчук, Полтавська обл.,****39614, Україна, UA**

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ОТРИМАННЯ БІОГАЗУ ІЗ СИНЬОЗЕЛЕНИХ ВОДОРОСТЕЙ

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб отримання біогазу із синьозелених водоростей, що включає збір та використання субстрату для отримання клар-газу, який відрізняється тим, що отримують клар-газ за біотехнологією метанового "бродиння", при цьому як субстрат використовують концентровану біомасу ціанобактерій, зібраних під час "цвітіння" з акваторії водосховищ дніпровського каскаду.



(11) **104743**(19) **UA**(51) МПК (2016.01)
C12P 5/02 (2006.01)
C05F 11/00(21) Номер заявки: **u 2015 09746**(22) Дата подання заявки: **08.10.2015**(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну модель: **10.02.2016**(46) Дата публікації відомостей
про видачу патенту та
номер бюлетеня: **10.02.2016,**
Бюл. № 3

(72) Винахідники:

Никифоров Володимир
Валентинович, UA,
Єлізаров Михайло
Олександрович, UA,
Пасенко Альона Вікторівна,
UA,
Дігтяр Сергій Вікторович,
UA,
Шлик Сергій Вікторович, UA

(73) Власник:

КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
МИХАЙЛА
ОСТРОГРАДСЬКОГО,
вул. Першотравнева, 20, м.
Кременчук, Полтавська обл.,
39600, UA

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ВИРОБНИЦТВА МЕТАНУ ТА ДОБРИВА

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб виробництва метану та добрива, що включає збір концентрованої біомаси синьо-зелених водоростей з акваторії водосховищ дніпровського каскаду під час їх "цвітіння" для використання як субстрату в технології отримання біогазу, який відрізняється тим, що водоростеву фітомасу подають із плям їх згущення у водоймі до концентраційної колони самотоком, після відстоюють, чисту воду повертають до водойму, а концентрат ціанобактерій подають в анаеробну камеру дайджестеру, де піддається метаноґенезу в умовах температури 20-30 °C і рівномірного перемішування, в ході ферментації суміш газів збирають в газгольдер, а твердо-рідкофазний субстрат видаляють з анаеробної камери самотоком і спрямовують на сушку й брикетування де отримують добрива, частину відпрацьованого субстрату з дайджестера використовують як посівний матеріал для інокуляції завантаження у наступному циклі ферментації біомаси сестону.

Додаток В**Перелік нормативних документів, посилання на які містять ТУ
на біогаз, отриманий із органічної речовини масових форм гідробіонтів:**

Закон України «Про охорону навколишнього середовища» [120];

Закон України «Про охорону атмосферного повітря» [121];

Закон України «Про відходи» [119];

Закон України «Про благоустрій населених пунктів» [122];

Закон України «Про альтернативні джерела енергії» [123];

Закон України «Про комбіноване виробництво теплової та електричної енергії (когенерацію) та використання скидного енергопотенціалу» [124];

ДСТУ ISO 6327:2004 Аналіз газів. Визначення точки роси природних газів. Конденсаційні гігрометри з охолоджуваною поверхнею (ISO 6327:1981, IDT) [179];

ДСТУ ISO 6974-1:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 1. Настанови щодо спеціалізованого аналізування (ISO 6974-1:2000, IDT) [180];

ДСТУ ISO 6974-1:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 2. Характеристики вимірювальної системи і статистичне оброблення даних (ISO 6974-2:2001, IDT) [181];

ДСТУ ISO 6974-3:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 3. Визначення Гідрогену, Гелію, Оксигену, Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів до C₈ із використанням двох насадкових колонок (ISO 6974-3:2000, IDT) [182];

ДСТУ ISO 6974-4:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 4. Визначення Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів від C₁ до C₅ та C₆₊ для лабораторного та потокового процесу із використанням двох колонок (ISO 6974-4:2000, IDT) [183];

ДСТУ ISO 6974-5:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 5. Визначення Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів від C1 до C5 та C6+ для лабораторного та потокового процесу із використанням трьох колонок (ISO 6974-5:2000, IDT) [184];

ДСТУ ISO 6974-6:2007 Природний газ. Визначення складу із заданою невизначеністю методами газової хроматографії. Частина 6. Визначення Гідрогену, Гелію, Оксигену, Нітрогену, карбон (IV) оксиду і вуглеводнів від C1 до C8 із використанням трьох капілярних колонок (ISO 6974-3:2000, IDT) [185];

ДСТУ ISO 6974-6:2007 Природний газ. Обчислення теплоти згоряння, густини, відносної густини і числа Воббе на основі компонентного складу (ISO 6976-1995/Cor.2:1997, Cor 3:1999, IDT) [186];

ДСТУ ISO 10101-1:2007 Природний газ. Визначення вмісту води методом Карла Фішера. Частина 1. Вступ (ISO 10101-1:1993, IDT) [187];

ДСТУ ISO 10101-2:2007 Природний газ. Визначення вмісту води методом Карла Фішера. Частина 2. Методика титрування (ISO 10101-2:1993, IDT) [188];

ДСТУ ISO 10101-3:2007 Природний газ. Визначення вмісту води методом Карла Фішера. Частина 3. Методика кулонометричного визначення (ISO 10101-3:2007, IDT) [189];

ДСТУ ISO 10715:2009 Природний газ. Настанови щодо відбирання проб (ISO 10715-2:1997, IDT) [125];

НАПБ А.01.001-2004 Правила пожежної безпеки в Україні [129];

ДБН В.2.4-2-2005 Полігони твердих побутових відходів. Основні положення проектування. [120];

НПАОП 0.00-1.14-70 Правила будови і безпечної експлуатації поршневих компресорів, що працюють на вибухонебезпечних і токсичних газах [135];

НПАОП 0.00-1.41-88 Загальні правила вибухобезпеки для вибухопожежонебезпечних хімічних, нафтохімічних і нафтопереробних виробництв [190];

НПАОП 0.00-1.07-940 Правила будови і безпечної експлуатації посудин в, що працюють під тиском [136];

НПАОП 0.00-1.29-97 Правила захисту від статичної електрики [191];

НПАОП 0.00-1.18-98 Правила будови, виготовлення, монтажу, ремонту і безпечної експлуатації вибухозахищених вентиляторів [137];

Наказ Комітету по нагляду за охороною праці Міністерства праці та соціальної політики України від 17.06.1999 № 112, зареєстрований у Мін'юсті України 30.06.1999 за № 424/3717 «Про затвердження Положення щодо розробки планів локалізації та ліквідації аварійних ситуацій і аварій» (НПАОП 0.00-4.33-99) [138];

Наказ Комітету по нагляду за охороною праці Міністерства праці та соціальної політики України від 29.01.1998 № 112, зареєстрований у Мін'юсті України 07.04.1998 за № 226/2666, «Про затвердження Положення про розробку інструкцій з охорони праці» (НПАОП 0.00-4.15-98) [131];

Наказ Комітету по нагляду за охороною праці Міністерства праці та соціальної політики України від 09.01.1998 № 4, зареєстрований у Мін'юсті України 10.02.1998 за № 93/2533 «Про затвердження Правил безпечної експлуатації електроустановок споживачів» (НПАОП 40.1-1.21-98) [130];

Наказ Державного комітету України з нагляду за охороною праці від 26.01.2005 № 15, зареєстрований у Мін'юсті України 15.02.2005 за № 231/10511 «Про затвердження Типового положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці та переліку робіт з підвищеною небезпекою» (НПАОП 0.00-4.12-05) [132];

Наказ Державного комітету України з промислової безпеки, охорони праці та гірничого нагляду від 24.03.2008 № 53, зареєстрований у Мін'юсті України 21.05.2008 за № 446/15137 «Про затвердження Положення про

забезпечення працівників спеціальним одягом, спеціальним взуттям та іншими засобами індивідуального захисту» (НПАОП 0.00-4.01-08) [133];

ГОСТ 12.1.007-76*ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (Шкідливі речовини. Класифікація та загальні вимоги безпеки) [126];

ГОСТ 22387.4-77 Газ для коммунально-бытового потребления. Метод определения содержания смолы и пыли (Газ для комунально-побутового призначення. Метод визначення вмісту смоли та пилу) [192];

ГОСТ 22387.2-83 Газы горючие природные. Методы определения сероводорода и меркаптановой серы (Гази горючі природні. Методи визначення сірководню та меркаптанової сірки) [193];

ГОСТ 12.4.124-83 ССБТ. Средства защиты от статического электричества. Общие технические требования (ССБП. Засоби захисту від статичної електрики. Загальні технічні вимоги) [134];

ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны (ССБП. Загальні санітарно-гігієнічні вимоги до повітря робочої зони) [128];

ГОСТ 12.1 044-89 ССБТ. Пожаровзрывоопасность веществ и материалов (ССБП. Пожежовибухонебезпека речовин і матеріалів) [127].

Додаток Г

**Перелік нормативних документів, посилання на які містять ТУ
на дигестат як біологічне добриво:**

ДСТУ ISO 4176:2003 Добрива. Визначення вмісту нітратного Нітрогену. Ваговий метод із застосуванням нітрону (ISO 4176:1981, IDT) [150];

ДСТУ 4884:2007 Добрива органічні та органо-мінеральні. Терміни та визначення понять [140];

ДСТУ ISO 5310:2003 Добрива. Визначення вмісту калію. Титриметричний метод (ISO 5310:1986, IDT) [194];

ДСТУ ISO 5318:2003 Добрива. Визначення вмісту калію. Ваговий метод з застосуванням тетрафенілборату калію (Контрольний метод) (ISO 5318:1983, IDT) [151];

ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (ССБП. Шкідливі речовини. Класифікація і загальні вимоги безпеки) [153];

ГОСТ 12.3.009-76 ССБТ. Процессы производственные. Общие требования безопасности (ССБП. Процеси виробничі. Загальні вимоги безпеки) [152];

ГОСТ 17.2.3.01-86 Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населённых пунктов (Охорона природи. Атмосфера. Правила контролю якості повітря населених пунктів) [155];

ГОСТ 17.4.4.02-84 Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа (Охорона природи. Ґрунти. Методи відбору і підготовки проб для хімічного, бактеріологічного, гельмінтологічного аналізу) [195];

ГОСТ 21560.0-82 Удобрения минеральные. Методы отбора и подготовки проб (Добрива мінеральні. Методи відбору і підготовки проб) [196];

ГОСТ 26712-94 Удобрения органические. Общие требования к методам анализа (Добрива органічні. Загальні вимоги до методів аналізу) [143];

ГОСТ 26713-85 Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка (Добрива органічні. Методи визначення вологи і сухого залишку) [145];

ГОСТ 26714-85 Удобрения органические. Методы определения золы (Добрива органічні. Методи визначення золи) [146];

ГОСТ 26715-85 Удобрения органические. Методы определения общего азота (Добрива органічні. Методи визначення загального Нітрогену) [149];

ГОСТ 26717-85 Удобрения органические. Методы определения общего фосфора (Добрива органічні. Методи визначення загального фосфору) [197];

ГОСТ 26718-85 Удобрения органические. Методы определения общего калия (Добрива органічні. Методи визначення загального калію) [198];

ГОСТ 27979-88 Удобрения органические. Методы определения pH (Добрива органічні. Методи визначення pH) [147];

ГОСТ 27980-88 Удобрения органические. Методы определения органического вещества (Добрива органічні. Методи визначення органічної речовини) [148].

**Перелік нормативних документів, посилання на які містять ТУ
для експлуатації біометаногенної установки**

ДСТУ 2275-93 Енергозбереження. Нетрадиційні та поновлювані джерела енергії. Терміни та визначення [118];

ДСТУ 2569-94 Водопостачання і каналізація. Терміни та визначення [199];

ДСТУ 3803-98 Біотехнологія. Терміни та визначення [200];

ГОСТ 2.601-95 ЕСКД. Эксплуатационные документы (Эксплуатаційні документи) [201];

ГОСТ 9.014-78 ЕСЗКС. Временная противокоррозионная защита изделий. Общие требования (Тимчасовий протикорозійний захист виробів. Загальні вимоги) [202];

ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны (ССБП. Загальні санітарно-гігієнічні вимоги до повітря робочої зони) [203];

ГОСТ 12.2.007.0-75 ССБТ. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности (Вироби електротехнічні. Загальні вимоги щодо безпеки) [204];

ГОСТ 12.4.009-83 ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание (Пожежна техніка для захисту об'єктів. Основні види. Розташовування та обслуговування) [205];

ГОСТ 12.4.026-76 ССБТ. Цвета сигнальные и знаки безопасности (Кольори сигнальні та знаки безпеки) [206];

ГОСТ 14.201-83 Обеспечение технологичности конструкции изделий. Общие требования (Забезпечування технологічності конструкції виробів. Загальні вимоги) [207];

ГОСТ 17.1.3.13-86 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране поверхностных вод от загрязнения (Охорона природи. Гідросфера. Загальні вимоги до охорони поверхневих вод від забруднювання) [208];

ГОСТ 20.39.108-85 Комплексная система общих технических требований. Требования по эргономике, обитаемости и технической эстетике. Номенклатура и порядок выбора (Комплексна система загальних технічних вимог. Вимоги щодо ергономіки, населеності та технічної естетики. Номенклатура та порядок вибирання) [209];

ГОСТ 27.003-90 Надежность в технике. Состав и общие правила задания требований по надежности (Надійність у техніці. Склад та загальні правила задання вимог щодо надійності) [210];

ГОСТ 2226-88 (ИСО 6590-1-83, ИСО 7023-83) Мешки бумажные. Технические условия (Мішки паперові. Технічні умови) [211];

ГОСТ 9238-83 Габариты приближения строений и подвижного состава железных дорог колеи 1 520 (1 524) мм (Габариты приближения споруд і рухомого складу колії 1 520 (1 524) мм) [212];

ГОСТ 12969-67 Таблички для машин и приборов. Технические требования (Таблички для машин і приладів. Технічні умови) [213];

ГОСТ 12971-67 Таблички прямоугольные для машин и приборов. Размеры (Таблички прямокутні для машин і приладів. Розміри) [214];

ГОСТ 14192-96 Маркировка грузов (Маркування вантажів) [215];

ГОСТ 15150-69 Машины, приборы и другие технические изделия. Исполнения для различных климатических районов. Категории, условия эксплуатации, хранения и транспортирования в части воздействия климатических факторов внешней среды (Машины, прилади й інші технічні вироби. Виконання для різних кліматичних районів. Категорії, умови експлуатації, зберігання та транспортування в частині впливу кліматичних чинників зовнішнього середовища) [216];

ГОСТ 17811-78 Мешки полиэтиленовые для химической продукции. Технические условия (Мішки поліетиленові для хімічної продукції. Технічні умови) [217];

ГОСТ 24297-87 Входной контроль продукции. Основные положения (Вхідний контроль продукції. Основні положення) [218];

ГОСТ 24444-87 Оборудование технологическое. Общие требования монтажной технологичности (Устаткування технологічне. Загальні вимоги щодо монтажної технологічності) [219];

ГОСТ 26074-84 Навоз жидкий. Ветеринарно-санитарные требования к обработке, хранению, транспортированию и использованию (Гній рідкий. Ветеринарно-санітарні вимоги щодо обробляння, зберігання, транспортування та використання) [220];

ГОСТ 26712-94 Удобрения органические. Общие требования к методам анализа (Добрива органічні. Загальні вимоги щодо методів аналізу) [221].

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор

Кременчуцького національного
університету імені Михайла
Остроградського

В. В. Никифоров



АКТ

про використання у навчальному процесі
Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського
результатів дисертаційної роботи Дігтяря С. В.
«Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів»

Комісія у складі: голова навчально-методичної ради к.т.н., проф. Костін В. В., в.о. завідувача кафедри «Біотехнології та біоінженерія» к.х.н., доц. Новохатько О. В., к.т.н., доц. Пасенко О. В., д.б.н., проф. Никифоров В. В. цим актом підтверджують, що основні положення та результати дисертаційної роботи Дігтяря С. В. «Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів» впроваджені до навчального процесу з метою забезпечення належної підготовки фахівців освітньо-кваліфікаційного ступеня «Бакалавр» за спеціальністю 162 – «Біотехнології та біоінженерія», а саме до лекційних курсів і програм практичних занять з курсів «Процеси та апарати біотехнологічних виробництв», «Загальна біотехнологія», «Біоенергетика», «Екологічна біотехнологія», «Біотехнологічне очищення води», «Основи біоінженерії», «Біотехнологія переробки відходів».

У роботі досліджено можливість біоконверсії органічної речовини ціанобактерій та забезпечено математичну й статистичну обробку даних. Застосовано як традиційні методики біотестування з використанням представників ракоподібних як тест-об'єкту, так і ростовий тест із застосуванням сільськогосподарських культур дводольних і однодольних рослин. Проаналізовано основні фізико-хімічні та мікробіологічні умови біометаногенезу при виробництві біогазу шляхом анаеробної біодеградації фітомаси ціанобактерій.

Голова НМР

к.т.н., проф.

В. В. Костін

Члени комісії:

в.о. зав. каф. ББ, к.х.н., доц.

к.т.н., доц.

к.ф.-м.н., доц.

О. В. Новохатько

О. В. Пасенко

М. О. Єлізаров

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В.Г.КОРОЛЕНКА
Ідентифікаційний код 31035253
38003, м.Полтава, вул.Остроградського, 2
телефон 56-23-13, факс (0532) 2-58-67
№ 1175/01-60/54
18 04 2019 р.



ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з наукової роботи
Полтавського національного
педагогічного університету
імені В. Г. Короленка
С. М. Шевчук

АКТ

про використання у навчальному процесі
Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка
наукових результатів дисертаційної роботи Дігтяря С. В.
«Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів»

Комісія у складі: голова навчально-методичної ради д-р географ. наук, доц. Шевчук С. М., завідувачка кафедри ботаніки, екології та методики навчання біології д-р пед. наук, проф. Оніпко В. В., д-р біол. наук, проф. Орлова Л. Д., цим актом підтверджують, що основні положення та результати дисертаційної роботи Дігтяря С. В. «Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів» упроваджено до навчального процесу з метою забезпечення належної підготовки фахівців освітньо-кваліфікаційного ступеня «Бакалавр» за спеціальністю 091 – «Біологія», а саме у лекційних курсах і програмах практичних занять з дисциплін «Екологія мікроорганізмів», «Проблеми сучасної екології», «Гідроекологія», «Мікробіологія».

Викладачами використовуються такі ідеї, гіпотези та положення:

- модель процесу біометаногенезу у лабораторних умовах з практичним отриманням зразків біогазу;
- розробка безвідходної технології отримання біопалива II генерації (метановмісної газової суміші) за використанням нового, відновлювального субстрату – біомаси ціаней;
- застосування дигестату як органо-мінерального добрива для потреб сільського та лісового господарства.

Голова НМР
д-р географ наук, доц.

Члени комісії:
д-р пед. наук, проф.
д-р біол. наук, проф.

С. М. Шевчук

В. В. Оніпко
Л. Д. Орлова

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

КП «Кременчукводоканал»

В. І. Солодяшкін

АКТ

про лабораторно-промислові випробування
технології утилізації надлишкової органічної речовини
на основі наукових результатів дисертаційної роботи Дігтяря С.В.
«Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів»

Ми, що підписалися нижче, голова комісії – заступник директора технічного підприємства Міхєєв Р.В. та члени комісії – інженер-технолог цеху водопостачання – Кремень В.О., інженер-технолог Лівобережних КОС – Гадасюк Н.А., начальник ХБЛ – Маршева О.В., склали даний акт про лабораторне впровадження технології переробки біомаси синьо-зелених водоростей в період їхньої вегетації в акваторії Кременчуцького водосховища в районі водозабору системи централізованого водопостачання міста Кременчука в суміші з надлишковим активним мулом з лівобережних каналізаційних очисних споруд каналізації м. Кременчука, а саме:

1. Рекомендовано розширити дослідження щодо методу збору органічної речовини ціанобактерій та інших масових форм гідробіонтів у місці водозабору систем централізованого водопостачання міста Кременчука та її переробки на метановмісну біогазову суміш із залученням суміші сирого осаду та активного мулу з очисних споруд.

2. Рекомендовано продовжити регулярні спостереження щодо з'ясування ступеня (індексу) токсичності зразків води з Кременчуцького водосховища, з якої виробляється вода питна, призначена для споживання мешканців м. Кременчука. Визначення гострої токсичної дії досліджуваних вод здійснювалося із застосуванням методики біотестування, яка передбачає використання в якості тест-об'єктів живих організмів – представників гіллястовусих ракоподібних виду *Daphnia magna*. Визначено видовий склад альгофлори в місцях водозабору та обґрунтовано доведено негативний вплив на якість води виду ціанобактерій *Microcystis aeruginosa*, а також його домінуючу роль під час масового «цвітіння» водойм.

3. Рекомендовано провести дослідження щодо оцінки ступеня (індексу) токсичності зразків промислових та побутових стічних вод, також зворотних вод після очищення перед скиданням до р. Псел та Кам'янського водосховища.

Голова комісії:

Заступник директора технічного

Члени комісії:

Інженер-технолог

Інженер-технолог

Начальник ХБЛ

Р. В. Міхєєв

В. О. Кремень

Н. А. Гадасюк

О.В. Маршева

КП «Благоустрій Кременчука»

АКТ

про використання у виробничому процесі
Комунального підприємства «Благоустрій Кременчука»
наукових результатів дисертаційної роботи Дігтяря С.В.
«Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів»

Результати кандидатської дисертаційної роботи Дігтяря С. В. знайшли своє практичне застосування при розробці плану озеленення паркового фонду м. Кременчук. В ході проведення наукових досліджень за темою «Розробка біотехнології переробки масових форм гідробіонтів» за спеціальністю 03.00.20 – «Біотехнологія» (технічні науки) протягом 2017–2018 років, старший викладач кафедри біотехнологій та біоінженерії КрНУ імені Михайла Остроградського Дігтярь С. В. плідно співпрацював з нашим підприємством. Серед основних результатів даної співпраці можна насамперед виділити впровадження застосування в якості добрива відпрацьованого дигестату, що утворюється в процесі метаногенезу з органічного субстрату на основі біомаси ціанобактерій, а також розрахунок концентрацій такого добрива, що забезпечують максимально позитивну дію на фізіологічний стан зелених насаджень парку-пам'ятки садово-паркового мистецтва місцевого значення «Придніпровський». Впровадження наукового доробку Дігтяря С. В. доводять його практичну цінність в умовах ведення паркового господарства, зокрема відповідають сучасним європейським вимогам, що висуваються до якості продукту.

Заступник генерального директора
КП «Благоустрій Кременчука»



Ю.М. Мокієнко