

УДК 602.3 : 582.26 (045)

DOI: 10.15587/1729-4061.2016.79789

ИССЛЕДОВАНИЕ ПУТЕЙ КОМПЛЕКСНОЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ СИНЕ-ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

В. В. Никифоров

Доктор биологических наук,
профессор, первый проректор*

E-mail: v-nik@kdu.edu.ua

М. С. Малеваный

Доктор технических наук,
профессор, заведующий кафедры

Кафедра «Экология и

сбалансированное природопользование»

Национальный университет

«Львовская политехника»

ул. С. Бандеры, 12, г. Львов, Украина, 79013

E-mail: mmal@lp.edu.ua

Т. Ф. Козловская

Кандидат химических наук, доцент*

E-mail: tfk58@kdu.edu.ua

О. В. Новохатько

Кандидат химических наук,

доцент, заведующий кафедры*

E-mail: krnubiotechnology@gmail.com

С. В. Дегтярь

Старший преподаватель*

E-mail: sergiusvictor@gmail.com

*Кафедра «Биотехнология и здоровье человека»

Кременчугский национальный

университет им. Михаила Остроградского

ул. Первомайская, 20, г. Кременчуг, Украина, 39600

Наведено результати багаторічних досліджень різноманітних способів і методів збору і переробки синьо-зелених водоростей, що викликають «цвітіння» дніпровських водосховищ. Обґрунтовано можливість і доцільність переробки біомаси синьо-зелених водоростей на біогаз шляхом метаногенезу. Експериментально встановлено динаміку утворення біогазу, його якісний склад і кількісні характеристики. Проведено біотестування відпрацьованого субстрату на визначення його токсичності задля подальшого застосування як біодобрива у сільському господарстві

Ключові слова: синьо-зелені водорості, метаногенез, екологічна біотехнологія, біопаливо, біогаз, біодобрива

Приведены результаты многолетних исследований различных способов и методов сбора и переработки сине-зеленых водорослей, вызывающих «цветение» днепровских водохранилищ (Украина). Обоснована возможность и целесообразность переработки биомассы сине-зеленых водорослей в биогаз путем метаногенеза. Экспериментально установлена динамика образования биогаза, его качественный состав и количественные характеристики. Проведено биотестирование отработанного субстрата на установление его токсичности для дальнейшего использования в качестве биоудобрения в сельском хозяйстве

Ключевые слова: сине-зелёные водоросли, метаногенез, экологическая биотехнология, биотопливо, биогаз, биоудобрения

1. Введение

Финансовая нестабильность мировой экономики как результат энергетического кризиса актуализирует поиск новых нетрадиционных (альтернативных) источников энергии. Среди прочих к ним относят энергию Солнца, аккумулированную в биомассе фотосинтезирующих (автотрофных) растений (так называемая биоконсервация солнечной энергии).

Следует отметить, что на сегодняшний день определенная часть энергетического потенциала наземной биомассы растительного происхождения уже утилизируется человечеством. При этом шестую часть потребляемой энергии получают из сельскохозяйственной и другой фитомассы. Это эквивалентно ежедневному использованию более 4 млн. т нефти. Однако биомасса микрогидробионтов и фитопланктона (водорослей) до теперешнего времени не востребована вообще [1].

Из общего количества солнечного излучения, ежегодно достигающего поверхности Земли, растения утилизируют в среднем около 0,1%. Эта величина почти в 10 раз превышает мировое потребление энергии. Поэтому возникла идея использования биогаза – топлива, получаемого из органической массы путем ее биоконверсии – биометаногенез, или метановое «брожение» [2].

При этом наиболее перспективными аккумуляторами солнечной энергии оказались водоросли, позволяющие повысить ее эффективность до 3–5%. Так, максимальное значение КПД фотосинтеза у сине-зеленых водорослей достигает 20%, что в 200 раз превышает среднее значение КПД фотосинтеза у наземных растений.

Самым рентабельным процессом считается метанизация биомассы водорослей, выращенных на сточных водах (экономия за счет затрат на их очистку), а также собранных во время их массового развития («цвете-

ния») в естественных условиях (экономия за счет затрат на охрану окружающей среды).

Продуктивность установок для производства метана из водорослей, выращенных на сточных водах, составляет 50–80 т/га сухой биомассы в год, из которой получают от 75 до 120 тыс. кВт/час электроэнергии. Отходы метанового «брожения» являются богатым источником питания и могут быть использованы в лесном и сельском хозяйстве в качестве удобрений [3].

Энергия, получаемая за счет фотосинтеза водорослей с последующей конверсией ее в газ, считается конкурентоспособной наравне с ядерной энергией. Кроме того, упомянутый источник энергии абсолютно безопасен – не вызывает нарушения экологического равновесия, не ведет к радиоактивному или тепловому загрязнению среды, позволяет управлять процессами самоочищения воды и экономить природные ресурсы. При этом фотосинтез водорослей выступает дополнительным источником биологически активных веществ и удобрений.

Кроме того, ограничение массового развития сине-зелёных водорослей (СЗВ) в искусственных водоемах позволяет снизить уровень экологической опасности, связанной со вспышками их «цветения». Это приводит к значительному экономическому ущербу вследствие нарушения гидрохимического, гидробиологического режимов водохранилищ, угнетения жизнедеятельности гидробионтов и обитателей смежных биотопов.

Поэтому использование СЗВ во время их массового развития на акватории водохранилищ днепровского каскада для получения биотоплива [4, 5] и биоудобрения с последующей глубокой переработкой позволит получить не только дополнительный источник энергии, но и приведет к улучшению качества воды и повышению уровня экологической безопасности на прибрежных территориях.

2. Анализ литературных данных и постановка проблемы

Проблему освобождения водоемов от избытка СЗВ следует рассматривать с утилитарной точки зрения, т. е. как природный продуцент биомассы, содержащей ценные в пищевом, кормовом, медицинском, фармацевтическом, парфюмерном, сельско- и лесохозяйственном, а также техническом отношении вещества [4, 5].

Однако необходимо подчеркнуть, что одной из причин резкого ухудшения качества воды искусственных водоемов, особенно во время их «цветения», является токсичное действие СЗВ, вызванное их токсинами, – это алкалоиды, полипептиды и птеридины. Их воздействие способствует массовой гибели гидробионтов, водоплавающей птицы и домашних животных.

У человека при отравлении токсинами этих водорослей развивается аллергия, конъюнктивит, пищевая интоксикация. Это обусловлено высокой биологической активностью основного токсина *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing – микроцистина. В связи с этим возникает необходимость проведения профилактических и детоксикационных мероприятий на водосборах питьевого водоснабжения и в зонах санитарной охраны вод населенных пунктов. При этом следует

подчеркнуть, что на сегодняшний день технология очистки воды от токсинов является сложной, а, соответственно, дорогостоящей.

Главным из факторов, обуславливающих «цветение» водоемов, является активность Солнца. Установлено, что в годы низкой солнечной активности «цветение» формируется в конце мая-июня, достигает максимума в июле-августе и сохраняется до октября. При этом концентрация биомассы СЗВ характеризуется более высокими показателями по акватории водохранилищ, особенно в пятнах «цветения». При активном Солнце «цветение» сдвигается к осени, а биомасса фитопланктона в 3–5 раз меньше, что снижает уровень биологического загрязнения водоема [6]. Следовательно, актуальным и необходимым является достоверный прогноз «цветения», а также знание факторов, регулирующих уровень и интенсивность образования токсинов.

К продуктам вторичного биологического загрязнения воды в результате биодеградации фитомассы СЗВ относятся также парниковые газы – углекислый газ и метан. Известно [7], что в закрытой литорали выделяются два летних максимума образования CH_4 , обусловленные сезонными потоками органического вещества. Первый наблюдается во время летних вспышек массового развития фитопланктона, а второй – в конце вегетации высших водных растений в пределах $(1,17-5,21) \cdot 10^{-6} \text{ дм}^3 \text{ CH}_4/\text{дм}^3$ за сутки. В этот период водная толща обогащалась метаном в количестве $(0,9-12,6) \cdot 10^{-6} \text{ дм}^3 \text{ CH}_4/\text{дм}^3$.

Микробиологические процессы метанообразования в водохранилищах протекают повсеместно, но с резкими пространственно-временными колебаниями, с продуктивностью $0,01-24 \cdot 10^{-6} \text{ дм}^3 \text{ CH}_4/\text{дм}^3$ за сутки. При этом расход кислорода достигает 10 % БПК₁, а органического углерода – $(3,5-9,7) \cdot 10^{-6}/\text{дм}^3$ за сутки [7].

Таким образом, извлечение биомассы СЗВ из «цветущих» водохранилищ днепровского каскада обеспечит выполнение Украиной условий Киотского протокола Рамочной конвенции ООН по изменению климата (Рио-де-Жанейро, 1992) [8], а также присоединение к Директиве 2000/60/ЕС Европейского Парламента и Совета «Об установлении рамок деятельности Сообщества в области водной политики» (Брюссель, 2000) [9]. С этой точки зрения является очень эффективным в масштабах Украины реализация целевой комплексной программы научных исследований НАН Украины «Биомасса как топливное сырье» [10].

3. Цель и задачи исследования

Целью данной работы предусмотрены комплексные исследования по разработке экологической биотехнологии производства биотоплива и биоудобрения из фитомассы СЗВ.

Для достижения этой цели поставлены следующие задачи:

- определить видовой состав цианобактерий и микроорганизмов, участвующих в биодеградации и биоконверсии сестона, собранного во время «цветения» воды;
- изучить качественно-количественную динамику образования биогаза из СЗВ;

– определить массовую долю основных химических элементов отработанного субстрата для использования в качестве минералорганического удобрения;

– предложить биотехнологические пути комплексной переработки СЗВ и определить отрасли использования ее продуктов.

4. Материалы и методы исследований

4. 1. Электронное и световое микроскопирование

Для микроскопирования объектов с размером меньше 10 мкм (мелкие цианобактерии и метанобактерии) использован растровый электронный микроскоп измерительный (РЭМ-106 И), занесенный в Государственный Реестр Украины со следующими параметрами [11]:

- разрешение в режиме высокого и низкого вакуума – 4 и 6 нм соответственно;
- максимальный размер изображения – 1280×960 пикс;
- диапазон регулирования давления в камере – 1–270 Па;
- диапазон ускоряющих напряжений – 0,5–30,0 кВ;
- диапазон регулирования увеличений – 15–3·10⁵;
- максимальный размер объекта – 50 мм.

Для микроскопирования объектов с размерами больше 10 мкм (крупные цианобактерии или колонии мелких видов) использован световой микроскоп Ningbo Shengheng XS-3330c (Китай) видеонасадкой micro med и компьютерной программой для обработки изображений «ISCapture» (Китай).

4. 2. Определение элементного состава водорослевой биомассы

Измерение массовой доли (%) основных химических элементов в сухой биомассе СЗВ проведено с помощью рентгенофлуоресцентного анализатора (РФА) EXPERT 3L. В нем реализована методика энергодисперсионного элементного анализа. Она заключается в инициации характеристического излучения атомов пробы фотонами тормозящего спектра маломощной рентгеновской трубки с последующей его регистрацией полупроводниковым PIN-детектором.

Основные параметры РФА EXPERT 3L [12]:

- диапазон измеряемых химических элементов (диапазон контроля) – от магния (¹²Mg) до урана (⁹²U);
- диапазон измерения массовых долей (концентраций) элементов – от 0,01 % до 99,90 %;
- время выхода установки на рабочий режим – не более 5 мин.;
- температура окружающего воздуха – от +15 до +45 °С;
- относительная влажность – не более 80 % во всем диапазоне температур;
- мощность эквивалентной дозы рентгеновского излучения на поверхности прибора не превышает 74 нЗв/ч.

4. 3. Гидродинамическая кавитация фитомассы водорослей

Для определения эффективности предварительной обработки биомассы водорослей в поле гидродинамической кавитации была смонтирована экспериментальная установка и описана методика исследований на ней – кавитатор динамического типа для изучения процессов деструкции клеточной стенки СЗВ [13]. В

условиях кавитационного перемешивания сравнивали эффект предварительной подготовки водорослей при частоте вращения рабочего колеса 4000 об./мин. в течение 15 мин. После кавитационной обработки проба использовалась для извлечения липидов и получения биогаза.

4. 4. Определение острой токсичности водных растворов водорослевых остатков

Наличие острого токсичного действия водных растворов, включающих биомассу СЗВ, устанавливалось в соответствии с Национальным стандартом Украины «Качество воды. Определение острой летальной токсичности на *Daphnia magna* Straus и *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (*Cladocera*, *Crustacea*)» при начальной концентрации, приводящей в течение 24 час. к иммобилизации 50 % от общей численности экспонируемых дафний. Эту концентрацию называют «эффективная начальная концентрация угнетения» и обозначают как ЭК_{50n-24}. Критерием острой летальной токсичности являлась гибель 50 % и больше дафний в опыте относительно контроля за 24 или 48 час. Концентрации, повлекшие гибель 50 % и больше дафний в течение эксперимента, называются средними летальными концентрациями и обозначаются как ЛК₅₀₋₂₄ или ЛК₅₀₋₄₈.

5. Сине-зелёные водоросли как объект исследований при определении путей их комплексной переработки

Объектом исследования являются СЗВ (*Cyanophyta*) или, правильнее, цианобактерии (*Oxyphotobacteriobionta*) – древнейшая группа автотрофных прокариот, остатки которых обнаружены в докембрийских строматолитах возрастом 2,7–3,2 млрд. лет. Их космополитизм обусловлен адаптационными способностями – экологической пластичностью и резистентностью.

Среди них есть криофилы (обнаружены в антарктических льдах при T=–83 °С) и термофилы (обитают в горячих источниках при T=+90 °С). Причиной такой эврикотолерантности является политрофность цианобактерий – единственных на планете организмов, способных усваивать четыре газа: CO₂ для фотосинтеза, O₂ для дыхания, H₂S для хемосинтеза и N₂ для его фиксации. За вегетационный период (70–120 дней) одна исходная клетка СЗВ может произвести 10²⁰ дочерних, что и приводит к их массовому развитию – «цветению» воды.

Результатами оригинальных исследований на протяжении 2002–2016 гг. установлено, что доминирующим агентом «цветения» Кременчугского и Днепродзержинского водохранилищ (Украина) в период со второй половины июля до начала октября является *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing (рис. 1).

В ходе микроскопирования был определен средний диаметр клеток этого вида СЗВ, который составил 3,14 мкм.

Полученные результаты микроскопирования позволили определить, что 95–99 % биомассы СЗВ, характерной для Кременчугского и Днепродзержинского водохранилища днепровского каскада (Украина), составляет *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing массой 4,14·10⁷ т за вегетационный период (70 суток).

течение 24 час не зафиксировано независимо от проведения кавитации.

6. 2. Выделение биогаза в результате метаногенеза

В результате биохимических реакций, протекающих на органическом субстрате под действием ряда симбиотических микроорганизмов, получена газовая смесь, в которой на метан приходится от 65 до 80 %, а остальная часть распределяется между оксидами углерода и азота, сероводородом и другими газами.

С химической точки зрения в процессе биометаногенеза можно выделить три стадии: растворение и гидролиз органических соединений, ацидогенез и метаногенез. Соответственно, на каждом этапе действуют три группы бактерий: одни (ацидогенные) из них преобразуют сложные органические компоненты субстрата в масляную, пропионовую и молочную кислоты; другие (ацетогенные) – превращают эти органические кислоты в уксусную кислоту, водород и углекислый газ, и, наконец, метаногенные бактерии восстанавливают CO₂ в метан с поглощением водорода, который в противном случае может ингибировать уксуснокислые бактерии.

В этом случае реальную эффективность метаногенеза можно определить из математического уравнения:

$$E = (V \text{ CH}_{4\text{p.}} / V \text{ CH}_{4\text{т. max}}) \cdot 100 \%, \tag{1}$$

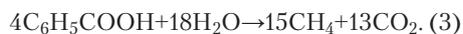
где V CH_{4p.} – объем метана, реально образующийся в метантенке из исследуемой пробы биомассы СЗВ, см³:

$$V_{\text{CH}_4} = \frac{N_{\text{CH}_4} p T_0 V_{\text{газ. фазы}}}{T_1 p_0}, \tag{2}$$

где N_{CH₄} – содержание метана в газовой фазе, %; V_{газ. фазы} – объем газовой фазы в метантенке, дм³; T₀ – температура при н. у. (298 К); T₁ – температура, при которой проходит метаногенез, К; p₀ – давление при нормальных условиях, 10⁵ Па; p – давление в реакторе, Па; V CH_{4т. max} – теоретический рассчитанный максимально возможный объем метана, см³ (по уравнению Клапейрона).

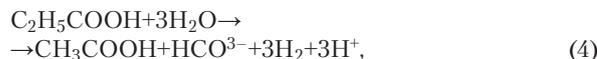
В естественных условиях образование биогаза обеспечивается благодаря жизнедеятельности мезофильной микрофлоры метантенков. Оптимальный температурный режим исключительно за счёт солнечной радиации без применения дополнительных источников тепла на большей территории Украины относительно легко может быть обеспечен в летние месяцы.

В строго анаэробных условиях, которые могут быть обеспечены в технологическом процессе биоконверсии органической массы цианей, метан можно получить из ароматических соединений, являющихся промежуточными продуктами распада более сложных соединений. Суммарное уравнение реакций при этом имеет следующий вид:



Необходимо отметить, что на процесс метаногенеза влияет наличие не только

ароматических соединений, но и ациклических карбоновых кислот типа пропионовой, уксусной, масляной кислот. Их анаэробное сбраживание также дает дополнительное количество водорода, что в конечном итоге увеличивает выход метана:



Экспериментальная установка для имитации процесса метаногенеза в опытно-лабораторных условиях была смонтирована и апробирована в лаборатории биоэнергетики кафедры естественных наук, усовершенствована и запущена в эксплуатацию на базе лаборатории кафедры биотехнологии и здоровья человека Кременчугского национального университета имени Михаила Остроградского (Украина). Эксперимент проводился в термостате электрическом суховоздушном ТС-80 М при температуре +30 °С.

В ходе эксперимента были использованы две пробы биомассы цианей (V=0,5 дм³), отобранные в городской черте Днепродзержинского водохранилища (возле бассейна «Нептун») в сентябре 2015 года. Опираясь на данные целого ряда исследований [16–18], установивших эффективность использования предварительной обработки биомассы цианобактерий с помощью гидромеханических методов, одна из проб предварительно была подвергнута процедуре механической кавитации в течение 7,5 мин.

Через сутки после начала эксперимента была зафиксирована эмиссия первых объёмов биогаза, собранного в соответствующие мерные цилиндры способом «водного затвора» (рис. 3).

В результате проведения метаногенеза в течение 37 суток из 1 дм³ некавитированного субстрата получено 1,72 дм³ биогаза. Предварительная кавитация способствует увеличению объема биогаза до 2,19 дм³ (больше на 21,5 %). Данные образцы были проанализированы на газовом хроматографе Кристалл-2000М, на основе чего был определён химический состав газовой смеси (табл. 1), а также её плотность и теплота сгорания.



Рис. 3. Динамика выделения биогаза из биомассы СЗВ

На следующем этапе исследований экспериментально была определена теплотворная способность полученного биогаза, составившая 33 МДж/м³. Плотность биогаза находится в интервале значений 0,914–0,922 кг/м³ с теплотой сгорания Q=5100–5200 кДж/м³.

Таким образом, полученный биогаз по своим физико-термодинамическим параметрам приближается к природному газу – пропан-бутановой смеси. Последнее позволяет использовать его для отопления производственных и жилых зданий.

Результатом проведенных исследований явилось создание конструкции, монтажа и апробации

лабораторной установки, моделирующей процесс биометаногенеза с использованием различных видов субстрата, как в условиях естественного температурного режима, так и в изотермных модельных системах. Такой подход целесообразен при использовании в качестве субстрата для биогазовых станций концентрированной органической массы цианей в промышленных масштабах. Для сбора субстрата в промышленных масштабах специальные концентрационные колонны располагаются в местах максимального естественного сгущения биомассы синезеленых водорослей (рис. 4) [14].

Таблица 1

Химический состав биогаза (%), образованного из цианей в течение ноября 2015 года

№	дата	CH ₄ +H ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO	H ₂ S	другие
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	02.11	70.10	20.05	8.15	0.36	0.15	0.04	1.15
2	03.11	72.00	19.07	7.05	0.49	0.22	–	1.17
3	04.11	71.75	20.77	6.75	0.73	–	–	–
4	05.11	71.90	20.00	7.23	0.43	0.22	–	0.22
5	06.11	70.14	22.04	7.34	0.34	0.11	0.03	–
6	07.11	71.15	21.05	7.30	0.33	0.12	–	0.05
7	09.11	73.09	20.14	6.13	–	0.54	–	0.10
8	10.11	72.05	19.05	7.02	0.03	0.02	0.09	1.74
9	11.11	70.30	21.05	7.25	0.80	0.60	–	–
10	12.11	71.11	20.01	6.30	0.55	–	–	2.03
11	13.11	73.00	19.11	5.98	0.30	0.29	–	1.32
12	14.11	71.15	20.05	5.41	0.18	0.10	–	3.11
13	16.11	71.56	20.28	6.02	0.42	0.16	–	1.56
14	17.11	71.74	19.95	7.31	0.59	0.27	–	0.14
15	18.11	70.25	20.21	5.47	0.85	0.15	0.07	3.00
16	19.11	72.77	19.18	6.12	0.27	0.13	–	1.53
17	20.11	70.26	21.09	6.54	0.21	0.23	–	1.67
18	21.11	72.05	19.54	7.00	0.48	0.25	–	0.68
19	23.11	69.78	22.87	5.97	0.35	–	–	1.03
20	24.11	67.99	24.14	6.18	0.30	0.18	–	1.21
21	25.11	72.54	19.91	5.11	0.41	0.09	–	1.94
22	26.11	70.97	20.10	7.00	0.43	0.11	–	1.39
23	27.11	73.25	18.88	5.01	0.55	–	–	2.31
24	28.11	72.14	19.14	6.05	0.61	0.21	–	1.85
25	30.11	70.23	21.13	5.55	0.40	0.24	0.05	2.40
Σсред.	–	71.33	20.35	6.45	0.42	0.18	0.01	1.26

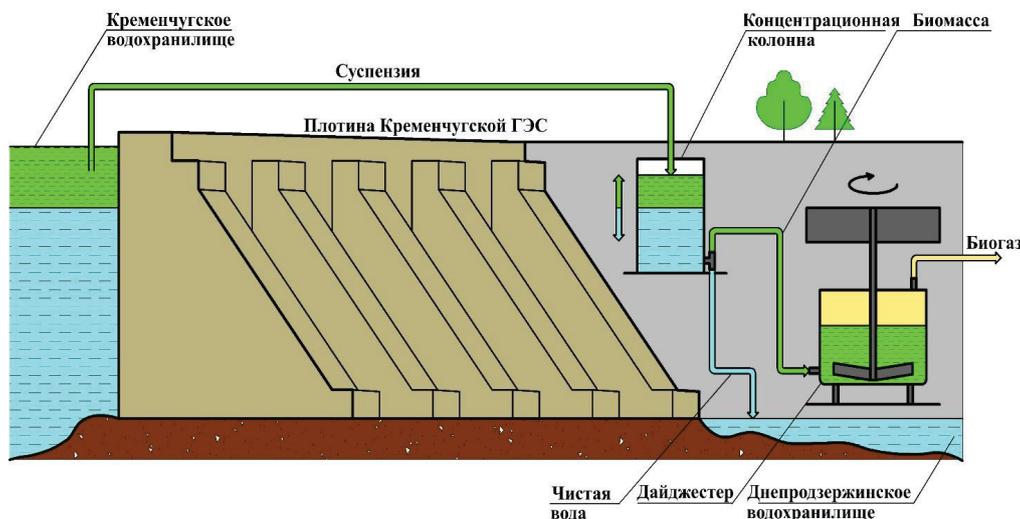


Рис. 4. Схема расположения технологических узлов промышленной станции для получения биогаза

Предложенная технологическая схема получения биогаза (рис. 4) основывается на периодической подаче субстрата в концентрационную колонну [14]. При этом водорослевая биомасса подается самотеком. Биомасса всплывает на поверхность вследствие наличия в ней пузырьков газа, а чистая вода остается внизу колонны. Как только нижний уровень биомассы достигает распределительного вентиля, его переключают на подачу биомассы в дайджестер для проведения метаногенеза. Оставшийся субстрат удаляют из анаэробной камеры и направляют на сушку или брикетирование для получения биоудобрения. Часть отработанного субстрата из дайджестера содержит метаногенный микробиоценоз, поэтому используется далее как посевной материал для инокуляции загрузки в следующем цикле ферментации биомассы сестона.

6. 3. Возможности получения минералорганического удобрения из отработанного субстрата сине-зеленых водорослей

Следующий этап исследований базировался на необходимости дальнейшей переработки оставшегося после метаногенеза отработанного субстрата. Классическая технология получения биогаза в экономически обоснованных количествах предполагает использование в качестве органического субстрата отходов агропромышленного комплекса, в первую очередь, животноводства. В нашем случае биогазовая технология позволяет получить с помощью анаэробного сбраживания натуральное биоудобрение, содержащее биологически активные вещества и микроэлементы. Их основным преимуществом перед традиционными удобрениями является форма, доступность и сбалансированность всех элементов питания, высокий уровень гумификации органического вещества. Поэтому после внесения такого биоудобрения в почву происходит активизация азотофиксирующих и других микробиологических процессов.

Поэтому использование отработанного после био-метаногенеза субстрата (органической массы) в качестве удобрения в сельском и лесном хозяйстве может рассматриваться как перспективное безотходное биотехнологическое направление.

В связи с упомянутым, изучение динамики количественного прорастания модельных организмов (тест-объектов), как правило сельскохозяйственных культур, является первоочередной задачей при определении эффективности воздействия отработанного субстрата на растения. Для определения степени прорастания семян как одного из критериев оценки возможности использования сине-зеленых водорослей после метаногенеза в качестве удобрений использовано два вида культурных растений: пшеница мягкая – *Triticum durum* L. (однодольные) и горох посевной – *Pisum sativum* L. (двудольные).

Проращивание семян тест-объектов проводилось в чашках Петри с использованием отработанного субстрата в различных разведениях (1:10, 1:50, 1:100, 1:200, 1:500 и 1:1000) при T=25 °C и pH=6,5–7,50. Всхожесть определялась числом проросших из 100 семян (%) по сравнению с контролем (полив бидистиллятом) в трех повторностях.

Анализ результатов исследований прорастания гороха и пшеницы на субстратах с различной концентрацией позволил выявить, что наиболее высокой

является всхожесть пшеницы при разведениях субстрата 1:100 и 1:200, а гороха – при 1:50 и 1:100. Таким образом, оптимальными для использования водорослевых остатков в качестве биоудобрения в сельском и лесном хозяйстве является разведение отработанного субстрата 1:100.

Исходя из того, что биотестирование является неотъемлемой составляющей системы оценки качества и контроля водных растворов различного хозяйственного назначения, ряд разбавлений отработанного после получения биогаза субстрата цианей с различной его концентрацией был подвергнут процедуре биотестирования в соответствии с Национальным стандартом качества воды. Основная методика, руководствуясь которой проводили эксперимент, предусматривает использование в качестве тест-объекта представителей ракообразных – ветвистоусых рачков вида *Daphnia magna* Straus.

Тщательный анализ результатов исследований выживаемости дафний в водных растворах субстрата с различной концентрацией позволил определить уровни их токсичности:

– выживаемость тест-объектов в контроле является стопроцентной;

– выживаемость дафний при разведениях отработанного субстрата 1:10 и 1:50 уменьшилась на 90 и 76 % соответственно;

– выживаемость дафний при разведении свежего (токсичного) субстрата 1:10, 1:50 и уменьшилась на 93 и 83 % соответственно;

– при разведениях 1:100, 1:200, 1:500, 1:1000 для свежего (токсичного) и отработанного субстратов выживаемость тест-объектов составила от 90 до 100 %.

Таким образом, оптимальными для использования субстрата в качестве биоудобрения являются разведения, начиная с 1:100, что полностью соответствует результатам биотестирования с использованием модельных организмов гороха и пшеницы.

Целесообразность применения отработанной биомассы цианей подтверждается также результатами измерений массовой доли (%) в ней основных химических элементов с помощью рентгенофлуоресцентного анализатора EXPERT 3L (табл. 2), значения которой коррелируют с элементарным качественно-количественным составом живой растительной клетки.

Таблица 2

Массовая доля химических элементов биомассы цианобактерий после метаногенеза с содержанием > 1 %

Химический элемент	Массовая доля, %		
	проба 1	проба 2	среднее
¹⁵ P	7,47±0,30	7,16±0,13	7,32±0,22
¹⁶ S	10,10±0,22	11,71±0,10	10,91±0,16
¹⁷ Cl	9,45±0,19	8,46±0,08	8,96±0,14
¹⁴ Si	3,75±0,18	4,43±0,09	4,09±0,14
¹⁹ K	21,41±0,14	20,20±0,06	20,81±0,10
²⁰ Ca	44,54±0,25	45,13±0,11	44,84±0,18
²⁵ Mn	1,46±0,03	1,14±0,02	1,30±0,03
²⁶ Fe	1,69±0,03	1,49±0,02	1,59±0,03

Полученные результаты свидетельствуют об идентичности элементного состава биомассы цианобакте-

рий после метаногенеза элементному составу зеленой массы растений. Поэтому отработанный субстрат СЗВ может быть использован в качестве биоудобрения, поскольку является идентичным по пищевой ценности.

6. 4. Получение биологически активных веществ из цианей

Более ранними исследованиями [17] установлено, что один кг сухой биомассы микроцистиса содержит 320 г углеводов, 300 г белков, 5 г жиров, 3,8 мг тиамина, 3,7 мг никотиновой кислоты, 0,9 мг пиридоксина и 0,1 мг биотина. В результате гидролиза протеинов и полисахаридов образуется 17 аминокислот и 11 моносахаридов соответственно. Известно также, что максимальное «цветение» природной популяции *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing Кременчугского водохранилища (Украина) сопровождается наибольшим содержанием углеводов и витаминов в биомассе.

Белки. Массовые формы СЗВ в процессе жизнедеятельности синтезируют значительное количество протеинов и протеидов (более 30–40 % сухой массы).

Важным является тот факт, что белки СЗВ включают в себя почти все природные аминокислоты: цистеин, аргинин, серин, глицин, тирозин, метионин, валин, изолейцин, лизин, гистидин, треонин, аланин, фенилаланин, лейцин, аспарагиновую и глютаминовую кислоты. Это свидетельствует об их сбалансированности по аминокислотному составу.

Последние семь из них содержатся в максимальных количествах. Белки СЗВ включают все незаменимые для человека аминокислоты, составляющие 45–50 % общей суммы аминокислот.

Углеводы. Виды СЗВ, вызывающие «цветение» водоемов, являются активными продуцентами больших количеств разнообразных полисахаридов, особенно гемицеллюлоз и пектинов, составляющих 35–40 % суммы углеводов, которые, в свою очередь, достигают 30 % сухой водородослевой массы.

В качестве резервного полисахарида СЗВ накапливают специфический полимер типа гликогена, образующий с белками гликопротеид. В состав полисахаридов СЗВ входят глюкоза, арабиноза, рамноза, фруктоза, галактоза, фукоза, ксилоза, манноза и урновые кислоты.

Особый интерес представляют сульфополисахариды СЗВ, участвующие в ионообменном процессе и обладающие способностью к образованию гелей. Их содержание может достигать 30 %.

Жиры. Массовые формы СЗВ накапливают небольшое количество липидов – до 5 %, однако в их гидролизате содержится большое разнообразие высших жирных кислот с преобладанием насыщенных форм. Липиды СЗВ обладают антибактериальным действием и в этом отношении представляют особенный интерес.

Фосфорорганика. СЗВ, доминирующие в днепровских водохранилищах, богаты фосфором и содержат неорганический фосфат, фосфорные эфиры сахаридов,

моно-, ди- и трифосфонуклеотиды, нуклеиновые кислоты, фосфолипиды и высокомолекулярные полифосфаты. При комплексной переработке СЗВ могут быть получены и эти соединения в значительных количествах.

Витамины. Еще одной группой биологически активных соединений (БАВ), синтезируемых СЗВ, являются витамины. Особый интерес среди них представляют никотиновая кислота, тиамин, пиридоксин, биотин и кобаламин.

Таким образом, СЗВ являются источником биологически активных веществ, которые можно использовать не только в сельском хозяйстве для витаминизации кормов, но и для биотехнологических и нанопроцессов. При этом биологически активные вещества СЗВ в микроколичествах можно целенаправленно доставлять в конкретные клетки тканей и органов с применением магнитных частиц – переносчиков этих БАВ – для формирования желаемого лечебного эффекта. Однако этот блок требует последующих целенаправленных исследований.

7. Выводы

1. В результате проведенных исследований с применением унифицированных методов световой и электронной микроскопии определено, что основным видом сине-зеленых водорослей Кременчугского и Днепродзержинского водохранилищ Днепровского каскада (Украина) является *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing массой $4,14 \cdot 10^7$ т за вегетационный период. Средний диаметр клеток этого вида СЗВ составил 3,14 мкм.

2. При использовании методов газовой хроматографии определено, что биогаз, полученный путем метаногенеза фитомассы цианобактерий, представляет собой смесь газообразных компонентов с содержанием как основных компонентов метана и водорода (в сумме) до 72 %, диоксида углерода – до 20 %, молекулярного азота – до 6,5 % соответственно. При этом предварительная механическая кавитация биомассы увеличивает выход метана на 21,5 %.

3. Доказано, что водорослевые остатки могут быть использованы в качестве биоудобрения в сельском и лесном хозяйстве в виде водного раствора субстрата с разведением 1:100, 1:200, 1:500, 1:1000 при выживаемости ветвистоусых рачков вида *Daphnia magna* Straus как тест-объектов от 90 до 100 %. Оптимальная концентрация водного раствора отработанного субстрата зависит от полноты проведения процесса метаногенеза. Данные рентгеноструктурного анализа подтвердили соответствие элементного состава отработанного субстрата зеленой массе растений, что позволит обеспечить высокую питательную ценность водорослевых остатков.

4. Предложена полномасштабная схема биотехнологических путей комплексной переработки сине-зеленых водорослей и определены отрасли использования ее продуктов, что обуславливает направления последующих исследований.

Литература

1. Rajeshwari, K. R. Biochemical composition of seven species of cyanobacteria isolated from different aquatic habits of Western Ghats, Southern India [Text] / K. R. Rajeshwari, M. Rajashekhar // Brazilian archives of biology and technology. – 2011. – Vol. 54, Issue 5. – P. 849–857. doi: 10.1590/s1516-89132011000500001

2. Mussgnug, J. H. Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept [Text] / J. H. Mussgnug, V. Klassen, A. Schluter, O. Kruse // *Journal of Biotechnology*. – 2010. – Vol. 150, Issue 1. – P. 51–56. doi: 10.1016/j.jbiotec.2010.07.030
3. Hoiczuk, E. Cyanobacterial cell walls: news from an unusual prokaryotic envelope [Text] / E. Hoiczuk, A. Hansel // *Journal of bacteriology*. – 2000. – Vol. 82, Issue 5. – P. 1191–1199. doi: 10.1128/jb.182.5.1191-1199.2000
4. Da Ros, P. C. M. Assessment of chemical and physico-chemical properties of cyanobacterial lipids for biodiesel production [Text] / P. C. M. Da Ros, C. S. P. Silva, M. E. Silva-Stenico, M. F. Fiore, H. F. De. Castro // *Marine drugs*. – 2013. – Vol. 11, Issue 7. – P. 2365–2381. doi: 10.3390/md11072365
5. Ehimen, E. A. Anaerobic digestion of microalgae residues resulting from the biodiesel production process [Text] / E. A. Ehimen, Z. F. Sun, C. G. Carrington, E. J. Birch, J. J. Eaton-Rye // *Applied Energy*. – 2011. – Vol. 88, Issue 10. – P. 3454–3463. doi: 10.1016/j.apenergy.2010.10.020
6. Сиренко, Л. А. Активность солнца и «цветение» воды [Текст] / Л. А. Сиренко // *Гидробиологический журнал*. – 2002. – Т. 38, № 4. – С. 3–9.
7. Дзюбан, А. Н. Сезонная динамика микробиологического цикла метана в воде прибрежных мелководий Рыбинского водохранилища [Текст] / А. Н. Дзюбан // *Гидробиологический журнал*. – 2006. – Т. 42, № 6. – С. 47–51.
8. Рамочная конвенция ООН по изменению климата [Электронный ресурс]. – Рио-де-Жанейро, 1992. – Режим доступа: http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/climate_framework_conv.shtml
9. Директива 2000/60/ЕС Европейского Парламента и Совета «Об установлении рамок деятельности Сообщества в области водной политики» [Электронный ресурс]. – Брюссель, 2000. – Режим доступа: http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/MU00298.html
10. Целевая комплексная программа научных исследований НАН Украины «Биомасса как топливное сырье» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/MU00298.html
11. Растровый электронный микроскоп РЭМ-106 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ukrrospribor.com.ua/?me=21&id=360>
12. Мобильный прецизионный анализатор Expert 3L [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://inam.kiev.ua/expert-3l/>
13. Malovanyu, M. Mathematical model of the process of synthesis of biogas from blue-green algae [Text] / M. Malovanyu, V. Nykyforov, O. Kharlamova, O. Synelnikov // *Ecological Safety*. – 2015. – Vol. 1, Issue 19. – P. 58–63.
14. Патент на корисну модель № 104743 (Україна) Спосіб виробництва метану та добрива [Текст] / Никифоров В. В., Єлізаров М. О., Пасенко А. В., Дігтяр С. В., Шлик С. В. – № u2015 09476; заявл. 08.10.2015; опубл. 10.02.2016; Бюл. № 3. – 3 с.
15. Ратушная, М. Я. О химическом составе некоторых синезелёных водорослей [Текст] / М. Я. Ратушная, Л. В. Косенко, А. С. Кириллов, В. С. Сокода // *Микробиология*. – 1967. – Т. 29, № 1. – С. 3–33.
16. Никифоров, В. В. О природоохранных и энергосберегающих перспективах использования синезеленых водорослей [Текст]: сб. науч. тр. / В. В. Никифоров // *Промышленная ботаника*. – 2010. – Вып. 10. – С. 193–196.
17. Malovanyu, M. Reduction of the environmental threat from uncontrolled development of cyanobacteria in the waters of the Dnieper reservoirs [Text] / M. Malovanyu, V. Nykyforov, O. Kharlamova, A. Synelnikov, Kh. Dereyko // *Environmental problems*. – 2016. – Vol. 1, Issue 1. – P. 61–64.
18. Никифоров, В. В. Гидробионты как новый субстрат для получения клар-газа [Текст] / В. В. Никифоров, Т. Ф. Козловская, С. В. Дегтярь // *Екологічна безпека*. – 2008. – № 3 (3). – С. 28–30.