

ВИВЧЕННЯ ПРОЦЕСІВ МАСООБМІНУ ПІД ЧАС РЕАЛІЗАЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ОЧИЩЕННЯ ГАЗОВИХ ВИКИДІВ ВІД ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ

© Дячок В.В., Гуглич С.І., Левко О.Б., 2014

Досліджено процеси, що супроводжують поглинання та трансформацію вуглекислого газу у метан. Показано перспективу застосування біохімічних методів для трансформації вуглекислого газу у метан. Запропоновано технологічну схему біометанізації біомаси мікробіодоростей.

Ключові слова: фотосинтез, біометанізація, мікробіодорості.

The processes of absorption and transformation of carbon dioxide into methane are investigated. The prospects of use of the biochemical methods to transform carbon dioxide into methane are investigated. The technological scheme of microalgae biomass biometanization is proposed.

Key words: photosynthesis biometanization, microalgae.

Постановка проблеми. Добре відомо, що переважна більшість створених сучасною цивілізацією технологій є незамкненими процесами, які утворюють певні відходи. Шкідливість і небезпечність тієї чи іншої технології для навколишнього середовища визначаються насамперед кількістю та природою речовин, які є побічним продуктом – відходами технологічного процесу. Питання: “Що робити з відходами?” стоїть дуже гостро. Сучасні технології їх утилізації потребують усе нових і жорсткіших процесів, окрім того, більшість із них також дають відходи, які не завжди легко утилізуються.

Натомість усі процеси, що відбуваються у живій природі, є циклічними і добре збалансованими. Перетворення речовини в екосистемах реалізується за допомогою кругообігу – відходи одних процесів використовуються в інших біологічних процесах. Яскравим прикладом подібної збалансованості можуть бути біосферні цикли вуглецю, кисню, азоту та інших біогенних елементів. Надзвичайна збалансованість природних екосистем, високий рівень кореляції внутрішньо екосистемних біотичних процесів дають людині переконливий доказ їх ефективності, підказують шляхи запозичення у живої природи елементів і принципів, що стануть основою для проектування обладнання та розроблення майбутніх біотехнологій [1].

Технології, які побудовані за екологічними принципами і ґрунтуються на зведенні до мінімуму негативного впливу на довкілля, слід вважати екологічно безпечними технологіями або екотехнологіями. У тих випадках, коли згаданих принципів дотримуються, а технологічний процес побудований на використанні тих чи інших живих організмів, доцільно говорити про виникнення та існування напрямку в екології – біологічного очищення, а технології, що застосовуватимуться, – екобіотехнології [2–4].

Біологічне очищення, як відомо, ґрунтується на здатності мікроорганізмів включати до схеми метаболізму найрізноманітніші хімічні сполуки – забрудники. Розкладання забрудників відбувається під дією ферментів, що виробляються мікроорганізмами у середовищі забрудників, які підлягають усуненню.

До біологічного очищення газових викидів від CO₂ можна зарахувати фотосинтез. Одним із способів подолання проблеми підвищеного вмісту вуглекислого газу в атмосфері є його поглинання хлорофілсинтезуючими водоростями. Сьогодні особливої уваги заслуговують мікробіодорості. До них належить така мікробіодорість, як хлорелла–одноклітинна зелена водорість, яка має вигляд

мікроскопічної нерухомої кульки до 15 мкм у діаметрі. Хлорела невибаглива до умов існування і здатна інтенсивно розмножуватися, тому зустрічається всюди: у прісних водоймах, морях і ґрунтах. Водорості ростуть у 7–10 разів швидше за наземні рослини і відповідно поглинають більше двоокису вуглецю. Для існування їм потрібен вуглекислий газ, який вони беруть з навколишнього середовища, і за допомогою сонячної енергії перетворюють його на біомасу [5–6].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У зв'язку із збільшенням вуглекислого газу в атмосфері в кількостях, що перевищують природну здатність до самоочищення, в останні роки особливо актуальною є проблема очищення газових викидів біологічними методами, зокрема застосування хлорофілсинтезуючих водоростей. Використання мікроводоростей має багато істотних переваг завдяки прекрасній здатності мікроорганізмів адаптуватися до вкрай несприятливих умов (високій концентрації та токсичності, складній суміші забруднювальних речовин тощо). Водорості як “ковток м'яти” для димових труб. Вуглекислий газ від спалення органічних речовин спрямовують у воду, де ростуть водорості. Ті його одразу ж поглинають. Поглинаючи вуглекислий газ, водорості виробляють величезну масу органічної речовини, збагачують воду та повітря киснем, слугують основою живлення багатьох водяних тварин. Вони беруть участь в утворенні осадових порід та ґрунтоутворенні. Водорості людина вживає в їжу, використовує як корм для худоби, органічне добриво та сировину для вироблення різних хімічних сполук та лікарських препаратів, біопаливо. Врешті мікроводорості можуть бути збродені в анаеробних умовах у газ метан [7].

Отже, застосування одноклітинної водорості хлорели дає можливість не тільки здійснювати біологічні процеси очищення газових викидів від вуглекислого газу, але й продукувати цінний продукт, який є джерелом вітамінів і мікроелементів, і слугувати сировиною для одержання газу метану.

Мета роботи – вивчити процеси, які супроводжують біологічну трансформацію вуглекислого газу у метан.

Теоретична частина. Основою сучасної стратегії дослідження і описання біологічних процесів, ускладнених масоперенесенням, є поетапне вивчення впливу дифузійних чинників та пошук такого режиму проведення процесу, коли вплив масопереносу незначний або може бути знехтуваний [8–9].

Процес біологічного поглинання вуглекислого газу мікроводоростями передбачає його барботування у водному розчині. Умовно транспорт вуглекислого газу із повітря у внутрішній об'єм мікроводорості можна поділити на чотири етапи [10]:

– перший етап: підведення CO_2 із основного об'єму розчину до поверхні колоній біомаси мікроводоростей. Кількісно цей процес можна описати рівнянням масовіддачі:

$$dM/d\tau = \beta F (C - C_n), \quad (1)$$

де β – коефіцієнт масовіддачі; M – маса CO_2 , що перейшла в об'ємі розчину до поверхні мікроводорості; τ – час; F – площа поверхні масообміну; C , C_n – концентрація CO_2 у розчині і на поверхні колоній мікроводоростей;

– другий етап: дифузія CO_2 у міжклітинному просторі до поверхні клітини мікроводорості. Проникнення розчинених у рідкій фазі газоподібних субстратів до поверхні мембрани клітини відбувається молекулярною дифузією з подальшим транспортом через мембрану у внутрішній об'єм клітини. Кількісно процес міжклітинного переносу описується таким рівнянням:

$$D_m = \epsilon D_l, \quad (2)$$

де ϵ – коефіцієнт, що визначає пористість колоній мікроводоростей; D_m – коефіцієнт дифузії CO_2 у міжклітинному просторі колоній мікроводоростей; D – коефіцієнт дифузії CO_2 у воді;

– третій етап: транспорт CO_2 через клітинну мембрану у внутрішній об'єм клітини мікроводорості. Проникнення вуглекислого газу через клітинну мембрану може здійснюватися як

за рахунок активного, так і за рахунок пасивного транспорту. У разі пасивного транспорту процес має дифузійний характер та представлений формулою [11]:

$$\gamma = -D \text{ grad } C, \quad (3)$$

де γ – густина об'ємного потоку вуглекислого газу через клітинну мембрану; C – концентрація CO_2 у міжклітинному об'ємі розчину; D – коефіцієнт дифузії CO_2 через клітинну мембрану.

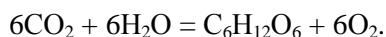
Активний транспорт можна описати рівнянням Міхаеліса–Ментена:

$$U = U_{\max} \frac{[S]}{k_m + [S]}, \quad (4)$$

де k_m – константа Мехаеліса–Ментена, що характеризує швидкість ферментативної реакції залежно від концентрації субстрату у стаціонарному процесі; U_{\max} – максимальна швидкість ферментативної реакції; S – концентрація субстрату (CO_2);

– четвертий етап: фотосинтез.

Шлях дифузії закінчується у хлоропластах, де CO_2 вступає у реакцію фотосинтезу:



Кінетика фотосинтезу описується рівнянням

$$\frac{dC}{dt} = k[C_{\text{CO}_2}] \cdot [C_{\text{H}_2\text{O}}]. \quad (5)$$

Згідно з правилами адитивності, сумарний коефіцієнт масопереносу K визначається так:

$$K = \frac{1}{\frac{1}{\beta} + \frac{1}{D_M} + \frac{\delta}{D_c} + \frac{1}{k_o}}, \quad (6)$$

де β – коефіцієнт масовіддачі від основного об'єму розчину до поверхні колоній мікроводоростей; l – умовний середній розмір колоній мікроводоростей; D_M – коефіцієнт дифузії CO_2 у міжклітинному просторі колоній мікроводоростей; δ – товщина мембрани клітини мікроводорості; D_c – коефіцієнт дифузії через клітинну мембрану; k_o – коефіцієнт швидкості реакції фотосинтезу.

В основу процесів масообміну клітини із зовнішнім середовищем покладено складний ряд організованих у певний спосіб у часі і просторі біореакцій. У результаті цих процесів змінюються концентрації різних речовин, кількість окремих клітин, біомаса організмів, можуть змінюватися й інші величини.

Під час барботування вуглекислого газу через водний розчин у біореакторі підведення CO_2 із одного об'єму розчину до поверхні колоній біомаси мікроводоростей є доволі інтенсивним. Тому коефіцієнт масовіддачі – β є порівняно значною величиною, а оберненим його значенням (згідно з рівнянням (6)) можемо знехтувати. Крім того, враховуючи пористість колоній мікроводоростей $\epsilon=0,4$, то можна припустити конвективний масоперенос вуглекислого газу у міжклітинному об'ємі колоній, а відтак другим коефіцієнтом в знаменнику виразу (6) також знехтуємо.

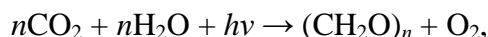
Якщо припустити, що проникнення CO_2 через клітинну мембрану у внутрішній об'єм клітини мікроводорості здійснюватиметься за рахунок активного транспорту, то тоді кінетика процесу має ферментативний характер і може бути описана рівнянням Міхаеліса–Ментена. Рівнозначно фотосинтез теж ферментативний процес. Тому визначивши константу Мехаеліса–Ментена на основі експериментальних даних досліджень динаміки поглинання вуглекислого газу, варто припустити, що вона дорівнює сумі двох останніх членів знаменника рівняння (6), а коефіцієнт масопереносу K пропорційний до коефіцієнта Мехаеліса–Ментена k_m : тобто $k_m \sim K$.

Експериментальна частина. У фотобіореактор, де міститься живильне середовище і мікроводорості, барботували вуглекислий газ. Цей апарат забезпечує мікроводоростям достатню кількостями CO_2 у всьому об'ємі фотобіореактора. Організація перемішування та освітлення за допомогою сонячної енергії сприяє інтенсифікації процесів поглинання із повітря CO_2 та

зростанню кількості клітин водоростей. Система аерації забезпечувала необхідну кількість CO₂ за можливо мінімальних затрат енергії і створення сприятливих, з точки зору масообміну і гідродинаміки, умов роботи біореактора.

Водорості культивували за температури 23±1 °С під час денного освітлення. рН середовища становило 6,5. Відбір біомаси водоростей здійснювали упродовж 55 діб, на початку досліду (через 2 год після внесення вуглекислого газу) зі встановленим інтервалом у п'ять днів. Перший біореактор – контрольний, у другий біореактор барботували повітря, а у третій – вуглекислий газ. Визначення концентрації біомаси водоростей проводили фотоколориметричним методом. Використовуючи одержані дані динаміки поглинання вуглекислого газу, отримали кінетичні криві, зображені на рис. 1.

Фотосинтез супроводжується поглинанням вуглекислого газу мікрободоростями із повітря і утворенням біомаси. Сумарну реакцію окисного (тобто аеробного) фотосинтезу можна записати як:



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

Необмежений у часі експоненційний ріст культури мікрободоростей можливий лише у разі постійного додавання усіх необхідних для росту компонентів (поживні речовини, аерація, світло тощо) та видалення продуктів життєдіяльності. Середовище містить обмежену початкову кількість поживних речовин і мікрободорості ростуть, як правило, доки вміст якогось необхідного їм компонента не досягне критичної величини, після чого ріст сповільнюється. Ріст у такій закритій системі підпорядковується закономірностям, яким підлягають не тільки одноклітинні, але й багатоклітинні організми. Якщо спостерігати за ростом мікрободоростей у рідкому середовищі, яке добре перемішується, то виявляється, що швидкість росту змінюється у часі. Крива, яка описує залежність кількості живих клітин або густини біомаси мікрободоростей від часу, називається кривою приросту. Типова крива приросту має так звану S-подібну форму і дає змогу виділити чотири фази росту, які проходять у певній послідовності і які виражені більшою або меншою мірою: початкову, або лаг-фазу, лінійну фазу, стаціонарну фазу, фази осідання культури (рис. 1).

Оскільки у контрольному біореакторі відсутнє барботування, то за певної концентрації мікрободоростей у ній відбувається їх асоціація, укрупнення з подальшим осіданням і крива, яка описує їх приріст, прямує донизу. Залишкова кількість мікрободоростей у розчині продовжує ділитися і крива повертає вверх (рис. 1). Під час барботування повітря чи вуглекислого газу утворені асоціати мікрободоростей підтримуються у середовищі барботування, тому криві приросту у кожному конкретному випадку напрямлені вверх (рис. 1).

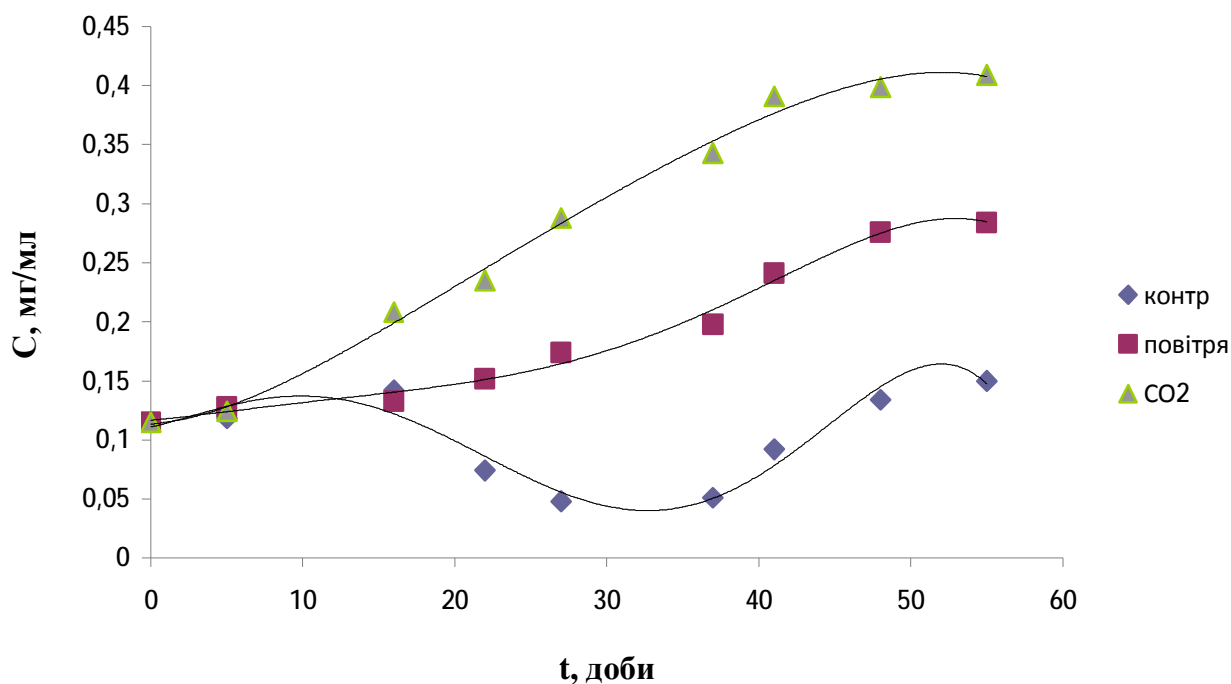


Рис. 1. Криві приросту біомаси мікрободоростей

Рівняння Міхаеліса–Ментена для ферментативних реакцій пов'язує швидкість ферментативної реакції з концентрацією субстрату. У моделі ферментативної реакції Міхаеліса–Ментен реакція процесу приросту біомаси супроводжується збільшенням біомаси та кількості ферментів.

На основі експериментальних даних приросту біомаси водоростей та за рівнянням (7)

$$U = \frac{U_{\max} \cdot [S]}{K_{\max} + [S]} \quad (7)$$

в системі координат $U=f(S)$, визначаємо максимальну швидкість приросту мікроводостей U_{\max} та константу Міхаеліса–Ментена k_{\max} у трьох біореакторах.

У контрольному – $U_{\max} = 0,07$ л/добу, $k_{\max} = 3,5 \cdot 10^{-4}$ доба⁻¹; у другому, куди барботували повітря, – $U_{\max} = 0,07$ л/добу, $k_{\max} = 4,2 \cdot 10^{-4}$ доба⁻¹; у третьому, куди барботували CO₂, $U_{\max} = 0,104$ л/добу, $k_{\max} = 4,2 \cdot 10^{-2}$ доби⁻¹.

Надмірне накопичення біомаси теж не зовсім позитивне явище під час проектування технологій біологічного очищення, а тому необхідно передбачити і способи перероблення отриманої біомаса теж. Одним із перспективних способів переробки біомаси мікроводоростей є метанове бродіння.

Згідно з сучасними уявленнями, анаеробне метанове зброджування включає чотири взаємозалежні стадії:

I) – стадію ферментативного гідролізу складних органічних речовин з утворенням простіших розчинених речовин;

II) – стадію кислотоутворення з виділенням коротколанцюгових легких жирних кислот (ЛЖК), амінокислот, спиртів, а також водню і вуглекислого газу (кислотогенна стадія);

III) – ацетогенну стадію перетворення ЛЖК, амінокислот і спиртів в оцтову кислоту, яка дисоціює на аніони ацетату і катіони водню;

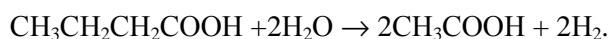
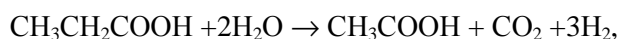
IV) – метаногенну стадію – утворення метану з оцтової кислоти, а також в результаті реакції відновлення воднем вуглекислого газу.

Деякі автори перші дві стадії об'єднують в одну і процес розглядається як тристадійний.

У процесі анаеробного зброджування беруть участь п'ять груп бактерій. До групи 1 належать ферментативні бактерії, представлені переважно родами *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Clostridium* тощо, що здійснюють стадію ферментативного гідролізу і кислотоутворення. Майже усі бактерії цієї групи належать до швидкозростаючих факультативних анаеробів з оптимумом рН = 6,5–7,6. Бактерії виділяють в середовище біологічні каталізатори – екзоферменти, за участю яких і здійснюється гідроліз. Швидкість гідролізу залежить від природи органічних речовин і умов його проведення: необхідно забезпечити достатню кількість ферментів, створити умови для їх контакту з органічним субстратом, витримувати оптимальні температури і значення рН.

Оскільки подальші стадії анаеробного зброджування не можуть розпочатися, доки не відбудеться гідроліз, загальна швидкість процесу може лімітуватися стадією гідролізу. Стадія кислотоутворення переважно не лімітує такі стадії зброджування, оскільки здійснюють її невибагливі бактерії, які ростуть з високою швидкістю. Але інтенсивно перебігаючі стадії гідролізу і кислотоутворення (їх загальна тривалість близько 7 год) можуть призвести до накопичення легких кислот і зниження рН, що часто є прямою причиною придушення зростання бактерій задіяних подальших стадій процесу.

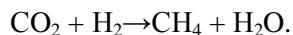
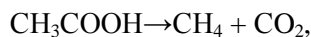
Ацетогенна стадія здійснюється двома групами ацетогенних бактерій. Перша утворює ацетат з виділенням водню з розчинних продуктів попередньої стадії кислотоутворення. Хімічні рівняння утворення оцтової кислоти з пропіонової і масляної кислот:



Друга група ацетогенних бактерій утворює оцтову кислоту за допомогою використання водню для відновлення CO₂ (ацетогени, що використовують водень):



На метаногенній стадії метаногенні бактерії утворюють метан двома шляхами: розщепленням ацетату і відновленням вуглекислоти воднем:



Першим шляхом утворюється 72 % метану, другим – 28 %.

У процесі можуть брати участь п'ять основних груп метанових бактерій, що розрізняються морфологічно: *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanotrix*, *Methanosarcina*.

Отже, для метанового зброджування необхідно завжди розглядати не окремі групи бактерій, а усю групу загалом. Ефективність процесу зброджування у такій групі залежить не тільки від діяльності організмів, що беруть участь у цій реакції, але і від життєдіяльності бактерій, які споживають продукти цієї реакції. Накопичення продуктів обміну на одній зі стадій процесу веде до гальмування інших. Бактерії, що працюють на різних стадіях, мають свої морфологічні та фізіологічні особливості, що виражаються у різних швидкостях росту, чутливості до рН і O_2 .

У цій роботі проводиться дослідження анаеробного збродження біомаси. Принципову технологічну схему процесу метанового бродіння зображена на рис. 2.

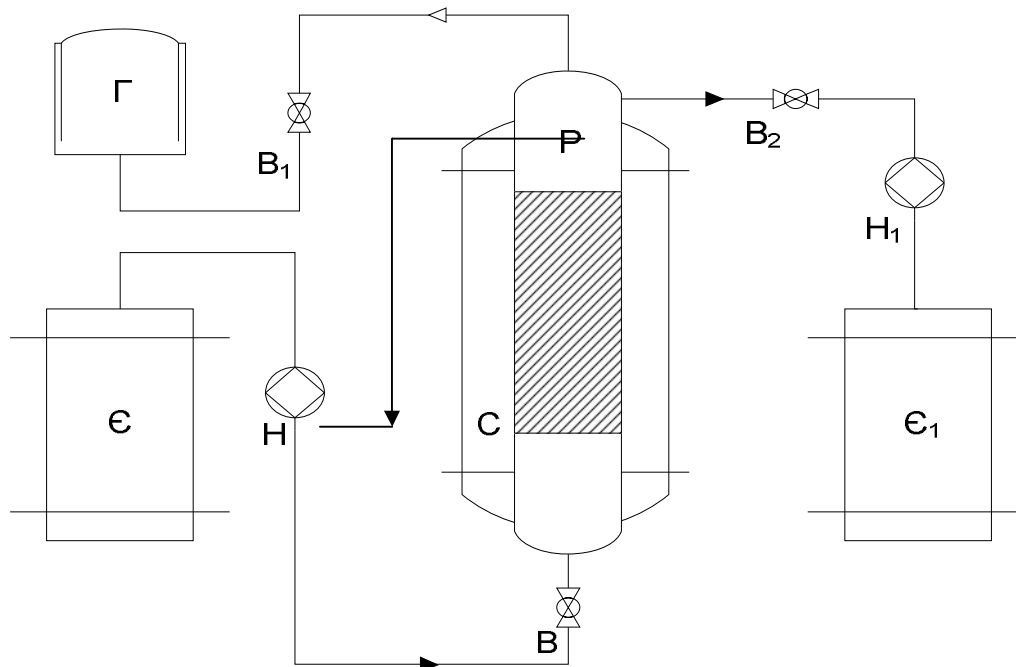


Рис. 2. Принципова технологічна схема процесу метанового бродіння біомаси мікробіодоростей:
B, B₁, B₂ – запірні кулькові вентилі; *Г* – газгольдер; *Є* – ємкість для суспензії біомаси; *Є₁* – ємкість стічної води; *Н, Н₁* – перистальтичні насоси; *Р* – біореактор; *С* – обігрівальна оболонка

Суспензія мікробіодоростей із ємкості (Є) за допомогою перистальтичного насоса (Н) подається у нижню частину біореактора (Р). Обігрів реактора здійснюється завдяки гріючій оболонці (С). У процесі біорозкладу утворений біогаз відкачується у газгольдер (Г). Суспензія знаходиться у замкненому циклі. Стічна вода відкачується з верхньої частини біореактора за допомогою насоса (Н₁) і збирається у ємкості (Є₁). Оптимальний час перебування суспензії у біореакторі становить 5–8 год залежно від умов бродження та консистенції субстрату. Робочий об'єм реактора – два літри. Температурний режим мезофільний (32–34 °С); рН = 7,0–7,9; швидкість прокачування суспензії через реактор – 9,6 літра/добу. Для біометанізації органічних сполук застосовувалися археї родів: *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanotrix*, *Methanosarcina*. Процес біометанізації здійснювався безперервно протягом двох тижнів (336 год).

У результаті перебігу процесу середня продуктивність реактора по біогазу становила 250–300 см³/добу.

Висновок. Вивчено динаміку приросту біомаси мікроводоростей та їх біометанізації. Визначено основні кінетичні константи біологічної трансформації перетворення вуглекислого газу, що дає змогу розраховувати обладнання під час реалізації процесів у промислових умовах.

1. *Экология микроорганизмов: учеб. для студ. вузов / А.И. Нетрусов, Е.А. Бонч-Осмоловская, В.М. Горленко и др.; под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Изд. центр “Академия”, 2004.– 272 с.* 2. Сухарев С.М., Чундак С.Ю., Сухарева О.Ю. *Техноекологія та охорона навколишнього середовища. – Львів: Новий світ-2000, 2004. – 254 с.* 3. Davey M.E., O’Toole G.A. *Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics // Microbiology and molecular biology reviews. – 2000 – V. 64, № 4. – P. 847–867.* 4. Tenner E.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. *Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.* 5. <http://ubr.ua/uk/tv/technologii/htar-vodorostiah-poglina>. 6. Запольський А. К., Салюк А. І. *Основи екології. – К.: Вища шк., 2001.– 358 с.* 7. Берлянд М.Е. *Современные проблемы атмосферной диффузии и загрязнения атмосферы. – Л.: Гидрометеоиздат, 1975. – 448 с.* 8. http://24tv.ua/news/newsVideo.dovodorosti_mozhut_vryativati_zemlyu_vid_globalnogo_poteplinnya&objectId=61.9. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/i1199e/i1199e0.pdf>. 9. Родіонов А. И., Кузнецов Ю. П., Соловьев Г.С. *Защита биосферы от промышленных выбросов. – М.: Химия; Колос, 2005. – 392 с.* 10. Ризниченко Н.Ф., Рубин А.Б. *Математические модели биологических продукционных процессов. – М.: Изд-во МГУ, 1993. – 300 с.*