

БИОТЕХНОЛОГИЯ МЕТАНОГЕНЕЗУ НА ОСНОВЕ БИОМАСИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ**С. В. Дігтяр**Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського
вул. Першотравнева, 20, м. Кременчук, 39600, Україна. E-mail: sergiusvictor@gmail.com

Явище «цвітіння» води є досить актуальною в наш час екологічною проблемою. Воно стало сезонним для Середнього Дніпра і викликається масовим розмноженням виду ціанобактерій – *microcystis aeruginosa*. Органічна речовина вилучена із водосховища є цінним субстратом для біоенергетичних технологій, таких як виробництво різних видів біопалива, зокрема біогазу. В ході досліджень була змонтована і апробована спочатку лабораторна, а згодом і промислова метаногенна установка. Дослідження зразків отриманого біогазу виявили їх досить високу якість – значний вміст метану і низьку концентрацію сірководню. Крім того як побічний, але не менш цінний продукт технології переробки біомаси розглядається відпрацьований субстрат, який може бути використаний в якості мінерально-органічного добрива. Його екологічна безпечність була доведена експериментально за допомогою методів біотестування з використанням в якості тест-об'єктів представників різних таксономічних груп.

Ключові слова: «цвітіння» води, *microcystis aeruginosa*, метаногенез, біогаз, концентраційна колона, дайджестер, ростовий тест, мінерально-органічне добриво.

БИОТЕХНОЛОГИЯ МЕТАНОГЕНЕЗУ НА ОСНОВЕ БИОМАССЫ ЦИАНОБАКТЕРИЙ**С. В. Дегтярь**Кременчугский национальный университет имени Михаила Остроградского
ул. Первомайская, 20, г. Кременчуг, 39600, Украина. E-mail: sergiusvictor@gmail.com

Явление «цветения» воды является достаточно актуальной в наше время экологической проблемой. Оно стало сезонным для Среднего Днепра и вызывается массовым размножением вида цианобактерий – *microcystis aeruginosa*. Органическое вещество извлечённое из водохранилища является ценным субстратом для биоэнергетических технологий, таких как производство различных видов биотоплива, в том числе биогаза. В ходе исследований была смонтирована и апробирована сначала лабораторная, а затем и промышленная метаногенная установка. Исследования образцов полученного биогаза показали их достаточно высокое качество – значительное содержание метана и низкую концентрацию сероводорода. Кроме того как побочный, но не менее ценный продукт технологии переработки биомассы рассматривается отработанный субстрат, который может быть использован в качестве минерально-органического удобрения. Его экологическая безопасность была доказана экспериментально с помощью методов биотестирования с использованием в качестве тест-объектов представителей различных таксономических групп.

Ключевые слова: «цветение» воды, *microcystis aeruginosa*, метаногенез, биогаз, концентрационная колонна, дайджестер, ростовой тест, минерально-органическое удобрение.

АКТУАЛЬНІСТЬ РОБОТИ. Кардинальні зміни гідрологічного режиму в екосистемах річки Дніпро внаслідок побудови в середині ХХ століття каскаду водосховищ призвели до цілого ряду проблем, актуальність яких з часом лише зростає. Чи не найгострішою є так зване «цвітіння» води, що виникає як результат стрімкого зростання біомаси ціанобактерій. Це явище вже стало сезонним для середньої течії Дніпра і викликане тут масовим розмноженням представників виду *microcystis aeruginosa*. Даний вид ціаней не лише забруднює воду альготоксинами, які виділяє в процесі своєї життєдіяльності, але і може спричиняти замори риби та інших гідробіонтів. Їх причиною є те, що кисень, нестача якого спостерігається в добре прогрітій воді, додатково витрачається на процеси деструкції відмираючої біомаси мікроцистиса, а згодом й інших водних мешканців.

Інтенсивному розмноженню ціанобактерій сприяє комплекс факторів, серед яких провідне місце належить кліматичним і гідрологічним – наявність в акваторії водосховищ значних площ з невеликими глибинами, що в літній період швидко прогриваються до температур оптимальних для розвитку біомаси мікроцистиса. Крім того ситуацію ускладнює постійне надходження у водойму комплексу біогенних

речовин, що потрапляють туди як із сільськогосподарських угідь так і з побутовими стічними водами у складі синтетичних поверхнево-активних речовин (СПАР). СПАР є основним постачальником фосфатів, а у стоках з полів до них додається ще і велика кількість азотовмісних сполук. Враховуючи здатність ціанобактерій до фотосинтезу, стає зрозумілим їх панівне положення в екосистемах водосховищ.

Останні дослідження вказують на те, що у плямах цвітіння кількість клітин *microcystis aeruginosa* може перевищувати 1 млн. на см³ (рис. 1), що відповідає близько 20 г сухої речовини на 1 дм³ природного концентрату [1]. Все це дозволяє віднести ділянки водойми, де були відібрані проби, до п'ятого класу цвітіння, тобто «гіперквітучі» [2].

Фотосинтез, продукція біомаси гетеротрофів і хемолітотрофів, а також деструкція розчинених органічних сполук відбуваються також в аеробних умовах, але в підзонах, розташованих під поверхневою плівкою води. При цьому окремі види мікроорганізмів можуть бути асоційованими з водоростями, макролітами або часточками детриту, тобто розвиватися у відповідних еконішах [3].

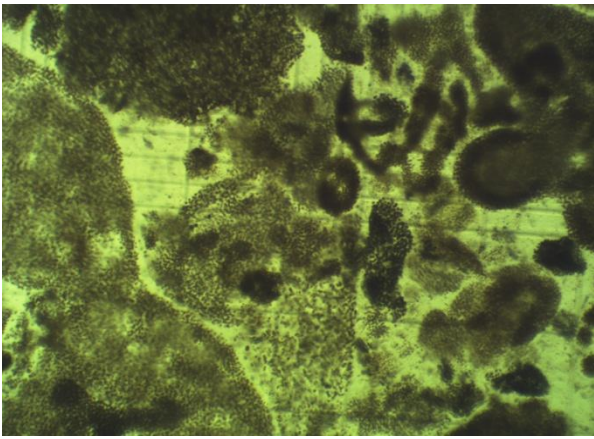


Рисунок 1 – Клітини *Microcystis aeruginosa* на камері Горяєва ($\times 160$)

Зняти гостроту цього негативного явища певною мірою можна завдяки своєчасному видаленню надлишкової біомаси з гідроекосистем, що піддаються «цвітінню» [4]. Окрім беззаперечного природоохоронного значення, комплекс таких заходів може мати відчутний економічний ефект. Органічна речовина, вилучена при цьому з водойми, є цінним субстратом для біоенергетичних технологій, а саме джерелом для виробництва різного роду альтернативних видів палива, зокрема біогазу.

Біогаз – це суміш газів, серед яких переважає метан, що продукується в процесі біометаногенезу або метанового «бродиння» [5]. Цей процес перетворення біомаси в енергію був відкритий ще у 1776 році Вольтою, який встановив наявність метану у болотному газі. Біометаногенез здійснюється в три етапи: розчинення і гідроліз органічних сполук, ацидогенез та власне метаногенез. На кожному етапі діє певна група мікроорганізмів, яка в свою чергу створює умови для ефективного функціонування інших бактеріальних комплексів. Прикладом досить складних взаємозв'язків може бути симбіотичне угруповання оцтовокислих і метанобактерій.

Слід зауважити, що власне метаногенні бактерії є облигатними анаеробами, тобто пристосовані до життя виключно в безкисневому середовищі. Отже вироблення біогазу починається тільки коли сформуються усі зв'язки між іншими представниками мікробіоценозу та будуть створені належні умови.

В межах групи метанобактерій спостерігається певна морфологічна гетерогенність. Серед них є коки, бацили, сарцини і спірили. Найпоширенішими з метанобактерій можна вважати *Methanobacterium formicicum* та *Methanospirillum hungati*, які давно існують і в культурі. За їх допомогою метан можна отримувати навіть з ароматичних сполук, що може в перспективі бути використано для біоконверсії деяких видів органічних відходів та при очистці стічних вод від присутніх в них біоцидів.

Метою роботи є випробування на практиці використання в якості сировини для енергетичної біоконверсії надлишкової органічної маси ціанобактерій та дослідження факторів, що впливають на ефективність процесу метаногенезу; визначення якості кінцевого продукту та можливості повторного використання відпрацьованого субстрату.

МАТЕРІАЛ І РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ. Розробка промислової технології контрольованого метаногенезу на основі біомаси ціанобактерій була проведена на базі лабораторій кафедри біотехнологій та біоінженерії Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського. В ході досліджень була змонтована спочатку лабораторна (рис. 2), а потім і промислова метаногенна установка. Досліди проводилися переважно у мезофільних умовах, що надає отриманим результатам максимальної інформативності та наближає до режиму реальної експлуатації. Закономірним наслідком проведеної роботи стали зразки біогазу, якісний та кількісний аналіз яких проводився з використанням відповідних фізико-хімічних методів. Дослідження проб біогазу показали їх досить високу якість: вміст метану – 65 – 70 %, низький вміст сірководню – сліди, теплота згорання – 5100 – 5200 кДж/м³.

Компонентний хімічний склад газу визначався за допомогою газового хроматографа Кристалл – 2000М за методикою аналізу ДСТУ ISO 6974-1:2007, ДСТУ ISO 6974-4:2007.



Рисунок 2 – Лабораторна метаногенна установка

Крім біогазу побічним, але не менш цінним продуктом даної технології може бути відпрацьований після метаногенезу субстрат [6]. Дана органічна речовина не містить шкідливих речовин та не має токсичного ефекту, що підтверджено комплексними дослідженнями із застосуванням методів біотестування [7, 8], а в ряді ростових тестів результати перевищували показники контролю (рис. 3).

Аналіз результатів досліджень проростання гороху і пшениці під дією субстратів з різною концентрацією дозволив виявити, що схожість пшениці при розведеннях субстрату 1:100 і 1:200 найвища, в

свою чергу, у гороху це розведення – 1:50 і 1:100. Оптимальними для використання в якості мінерало-органічного добрива є розведення відпрацьованого субстрату, як для пшениці так і для гороху – 1:100.



Рисунок 3 – Проби пророщеного насіння у термостаті

Відповідні розбавлення також піддавалися процедурі біотестування за основною методикою визначення національного стандарту якості води, яка передбачає використання в ролі тест-об'єктів представників ракоподібних. Воно теж не виявило ні гострої ні хронічної токсичної дії розбавленої відпрацьованої органічної маси на живі організми, що використовувалися в тесті.

Також елементарний склад ціанобактеріальної біомаси було досліджено за допомогою рентгенофлуоресцентного аналізатора EXPERT 3L на базі лабораторії Національного університету «Львівська політехніка». Результати даного аналізу, що наведені у табл. 1, також підтвердили відсутність перевищень гранично допустимих концентрацій речовини, які потенційно могли зробити досліджуваний субстрат токсичним.

Таблиця 1– Елементарний склад біомаси ціанобактрій

Елемент	Масова доля, %
Si	4,432±0,086
P	7,160±0,181
S	11,713±0,101
Cl	8,461±0,079
K	20,197±0,060
Ca	45,131±0,112
Ti	0,081±0,019
Mn	1,139±0,017
Fe	1,492±0,015
Ni	0,023±0,002
Cu	0,006±0,001
Zn	0,024±0,001
As	0,016±0,002
Se	0,007±0,002
Br	0,053±0,002
Sr	0,029±0,002
Zr	0,004±0,002
Pb	0,008±0,002
Sb	0,024±0,004

Виходячи з цього відпрацьована біомаса ціанобактерій може бути рекомендована для застосування в якості мінерально-органічного добрива у сільському та лісовому господарстві.

В перспективі можливе використання бактеріальної органіки як цінного джерела речовин для медичної галузі, зокрема фармакології.

Промислова метаногенна установка для отримання біогазу конструктивно складається з концентраційної колони, де відбувається згущення субстратної біомаси шляхом відстоювання та подальшого зливу зайвої води (рис. 4), та метантенку (дайджестеру) (рис. 5), який на 2/3 об'єму заповнюється концентрованою біомасою, і де протікає процес метаногенезу.

Концентраційна колона використовується у випадках, якщо субстрат має недостатню густину та високий вміст води, наприклад на початку чи в кінці вегетаційного сезону. За умови достатньої щільності органічної речовини, що використовується в технологічному процесі, вона може напряму подаватися до метантенку на переробку.



Рисунок 4 – Концентраційна колона

Саме метантенк (або дайджестер) є основою промислової біогазової установки [9]. В ньому створюються та підтримуються умови для ефективного протікання біохімічних і біофізичних процесів, що лежать в основі метаногенезу. Його об'єм, форма та матеріал, з якого він складається, визначаються безпосередньо господарюючим суб'єктом та залежать від умов та масштабів виробництва. Слід також звертати особливу увагу на такі конструктивні параметри, як міцність, герметичність та термоізо-

ляція, а також подбати про зручне розташування та вільний доступ до технологічних отворів, через які передбачається завантаження свіжого субстрату та злив відпрацьованої речовини.



Рисунок 5 – Метантенк (біодайджестер)

Важливим з точки зору техніки безпеки є питання поводження з кінцевим енергетичним продуктом. Утворена газова суміш через систему трубок та шлангів відводиться до газгольдерів, де може накопичуватися і зберігатися певний час, або може бути спалена через газовий пальник (рис. 6).

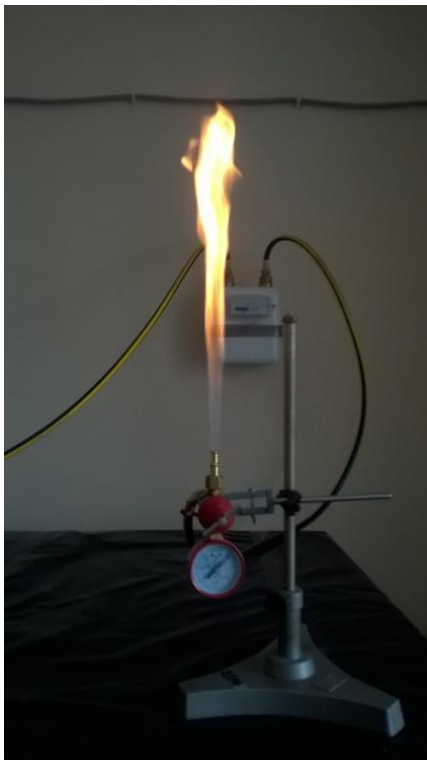


Рисунок 6 – Горіння біогазу через пальник

У конкретному окремому фермерському господарстві, де економічно обґрунтовано впровадження даної технології, газові трубки з опалювачами можуть бути безпосередньо підведені для обігріву відповідних комунікацій.

Підрахунок об'ємів газу, що утворився, відбувається за допомогою газового лічильника. Метантенк оснащений системою датчиків, які знімають дані за низкою показників (температура, тиск, рН, тощо) та передають їх на комп'ютер. З метою дотримання температурного режиму дайджестер вкрито термостатичним кожухом й оснащено обігрівальними еле-

ментами та термореле, що дозволяє автоматизувати процес стабілізації технологічних умов процесу та здійснювати їх поточний контроль.

Поєднання концентраційної колони з метантенком за допомогою шлангу дозволяє вчасно додавати у реактор нові порції свіжого субстрату. Зайва відпрацьована органічна речовина зливається через відповідний технологічний отвір. Задля забезпечення неперервності протікання необхідних реакцій та збереження якісних показників газу, що продукується, рекомендовано кожного разу при заміні субстрату залишати в дайджестері близько 10% попередньої біомаси, використовуючи її як «закваску», що містить в собі всі компоненти мікробного комплексу – біологічного агента, відповідального за процес метаногенезу [10].

При збільшенні обсягів виробництва біопалива до промислових масштабів виникає додаткова потреба у забезпеченні гомогенності реагуючої речовини. Для цього всередині метантенку передбачено розташування лопаткового перемішувача, що приводиться до руху за допомогою планетарного двоступеневого мотор-редуктора в автоматичному режимі. Перемішування достатньо проводити два чи три рази на добу протягом кількох хвилин. Таким чином енергетична економічність даного процесу не зазнає суттєвих змін.

Практичні дослідження показали ефективність протікання процесу за температури +35°C, що може бути досягнуто в літні місяці за реальних умов без додаткових енергетичних затрат. Синтез біогазу відбувався навіть за середньої температури +30°C і припинявся тільки при подальшому зниженні середньодобових показників. В лабораторних умовах з одного дм³ субстрату отримували до двох дм³ біогазової суміші рис. 7.

Динаміка метаногенезу, мл

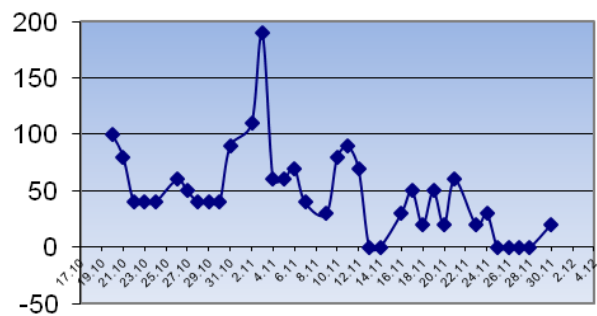


Рисунок 7 – Щодобовий добуток біогазу протягом місяця

У промислових масштабах цей показник дещо зменшувався, але сам процес прискорювався регулярним додаванням свіжого субстрату. Задля якнайшвидшої активізації процесів деструкції субстрату симбіотичним комплексом оцтовокислих та метаногенних бактерій з подальшим продукуванням біогазу при додаванні нової органічної маси в мета-

нтенках залишали близько 10% відпрацьованого субстрату.

Заміну субстрату проводили кожні 5–7 діб, залежно від зовнішніх умов та якості вихідної органічної речовини.

Практичні дослідження довели, що з максимальною ефективністю процес біометаногенезу протікає в умовах слабо кислого середовища (де рН наближається до 6). При зміні цього показника в бік слабо лужного (рН > 7) різко знижувалася якість синтезованого газу, зокрема його горючість.

Дослідження процесу утворення біогазу із субстрату, що частково виробив свій ресурс, продовжували також і в зимовий період, штучно підтримуючи відповідний температурний режим у дайджестері. Так при підтриманні температури +40°C з однієї тонни недорозкладеного субстрату щоденно виділялося близько 10 дм³ достатньо якісного біогазу. В той же час спостерігалася суттєве зниження рН внутрішнього середовища метантенку.

ВИСНОВКИ. Серед основних результатів, яких вдалося досягти в ході досліджень:

- використання економічно привабливої сировини в якості субстрата для ферментації;
- застосування екологічно безпечних і таких, що не потребують особливих енергозатрат, способів збору фітопланктону, виробництво біогазу з перспективою його подальшої трансформації в електроенергію;
- утилізація відходів виробництва як мінералоорганічних добрив у сільському та лісовому господарстві;
- покращення якості природних вод і, як результат, оздоровлення навколишнього середовища і населення;
- використання соціального й фінансового ефекту для забезпечення сталого еколого-економічного розвитку придніпровських регіонів.

До переваг даної технології можна віднести те, що будучи інтерпретацією класичного способу отримання біогазу із продуктів сільськогосподарського виробництва, вона може бути з легкістю переорієнтована на будь-яку іншу органічну речовину, яка є більш доступною за даних умов або передбачає кращий енергетичний ефект. Також вбачається за доцільне в деяких випадках для підвищення якості кінцевого продукту змішувати різні субстрати у

пропорціях, що можуть збільшити вихідний об'єм чи теплоту згоряння біогазу або покращити поживні якості мінерально-органічного добрива.

Практичні результати роботи в даному напрямку закріплені у вигляді патентів на корисні моделі та ряді публікацій у вітчизняних та закордонних фахових виданнях.

ЛІТЕРАТУРА

1. S. Digtar Qualitative and quantitative characteristics of biogas of cyanea organic mass // Environmental Problems. Lviv Polytechnic Publishing House, 2016, – V. 1 № 2 (2) – P. 149 – 153
2. Бобровський А.Л. Екологія поверхневих вод: У 2 кн. Кн. 1: Гідроєкосистеми: основні поняття і принципи. – Рівне, 2005. – 319 с.
3. Антипчук А.Ф., Кіреєва І.Ю. Водна мікробіологія. Київ: Кондор, 2005. – 256 с.
4. The feasible methods for cyan bacteria harvesting from the water body surface / M. Yelizarov, S. Digtar, S. Shlyk // Вісник Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського Кременчук: КрНУ, 2016. – Випуск 6 (101). – С. 91–95.
5. Гайнріх Д., Геррт М. Екологія: dtv-Atlas: Пер. з 4-го нім. вид. / Худож. Рудольф і Розмарі Фанерт; Наук. ред. пер. В.В. Серебряков. – К.: Знання-Прес, 2001. – 287 с.
6. Захаренко М.О., Яремчук О.С., Шевченко Л.В., Поляковський В.М., Михальська В.М., Малюга Л.В., Іванова О.В. Гігієна та біоферментація побічних продуктів тваринництва. – К.: «Центр учбової літератури», 2017. – 536 с.
7. Губачов О.І., Сливка Г.В. Біотестування. – Кривий Ріг: Мінерал. – 2011. – 192 с.
8. Чалова І.В. Оценка качества природных и сточных вод методами биотестирования с использованием ракообразных (*Cladocera*, *Crustacea*). – Рыбинск: Рыбинский Дом печати, 2007. – 73 с.
9. Алхасов А.Б. Возобновляемая энергетика. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2012. – 256 с.
10. 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.

BIOTECHNOLOGY OF METHANOGENESIS BASED ON CYANOBACTERIUM BIOMASS

S. Digtar

Kremenchuk Mykhailo Ostrohradskyi National University

vul. Pershotravneva, 20, 39600, Kremenchuk, Ukraine. E-mail: sergiusvictor@gmail.com

Purpose. To propose a way to solve the problem of reservoirs eutrophication by extracting excess biomass and then using it to produce biogas and a mineral-organic fertilizer. To determine the conditions under which the process of methanogenesis proceeds most efficiently. **Methodology.** Using generalized principles and approaches of physical and biochemical modeling, we have proposed a biotechnological solution to the problem of regulating of eutrophication level of a water body by bioconversion of cyanobacteria biomass. **Results.** The factors influencing the efficiency of the biomethanogenesis process have been analyzed. On the basis of these data, a laboratory and industrial plant for the production of biogas has been designed. Samples of biogas and mineral-organic fertilizers have been obtained. **Originality.** For the first time, the elemental composition of the cyanobacterial biomass and the chemical composition of the biogas obtained has been determined. The procedure for biotesting spent substrate has been performed and the absence

of toxic effect of mineral-organic fertilizer has been determined. **Practical value.** The resulting biogas gave quite high energy indices. *References 8, table 1, figures 7.*

Key words: blooming water, *microcystis aeruginosa*, methanogenesis, biogas, concentration column, digester, growth test, mineral-organic fertilizer.

REFERENCES

1. Digtar, S. (2016), *Qualitative and quantitative characteristics of biogas of cyanea organic mass // Environmental Problems*. Lviv Polytechnic Publishing House, 2016, – V. 1 № 2 (2) – pp. 149 – 153
2. Bobrovskiy, A.L. (2016), “*Ekologiya poverhnevnyh vod: U 2 kn. Kn. 1: Hydroecosystemy: osnovni ponyattya y pryncipi*” [Ecology of surface waters. In 2 books. B.1 Hydroecosystems] (Ukraine)– Rivne,–319 p.
3. Antypchuk, A.F., Kireeva, I.U. (2005), “*Vodna microbiologia*” [Water Microbiology], Kondor, Kyiv.
4. Yelizarov, M., Digtar, S., Shlyk, S. (2016), “The feasible methods for cyan bacteria harvesting from the water body surface”, *Transactions of Kremenchuk Mykhailo Ostrohradskyi National University*, Vypusk 6(101), – pp. 91–95.
5. Heinrich, D., Gergt, M. (2001), “*Ecologia: dtv-Atlas*” [Ecology: dtv-Atlas] (Ukraine) Per. z 4-ho nim. vyd. / Hudozh. Rudolf & Rosemary Fanert; Nayk. red per. B.B. Sererbryakov, Znannya, Kyiv.
6. Zaharenko, M.O., Yaremchuk, O.S., Shevchenko, L.V., Polyakovskiy, V.M., Myhalska, V.M., Maluga, L.B., Ivanova, O.V. (2017) “*Gigiena ta biofermentaciya pobichnyh produktiv tvarynnyctva*” [Hygiene and biofermentation of animal by-products] (Ukraine), Centr uchbovoyi literatury, Kyiv.
7. Gubachyov, O.I., Slyvka, G.V. (2011), “*Bio-testuvannya*” [Biotesting] (Ukrainian), Mineral, Kryvyi Rig.
8. Chalova, I.V. (2007), “*Ocinka pryrodnyh i stichnyh vod metodamy classychnogo biotestirovaniya s ispolzovaniem rakoobraznyh (Cladocera, Crustacea)*” [Assesment of natural and waste water using classical bioassay methods using crustaceans (*Cladocera, Crustacea*)] (Russian), Rybinskyi Dom pechaty, Rybinsk, Russia.
9. Alhasov, A.B. (2012), “*Vozobnovlyamaya energetik*” [Renewable power engineering] (Russian) – 2-e izd., pererab. i dop., FIZMATLIT, Moscow, Russia.
10. Pastorek, Z. (2006), “*Proizvodstvo biogaza iz smesi organicheskikh materialov*” [Production of biogas from a mixture of organic materials] (Ukrainian) *Naukovyi visnyk NUBiP Ukrainy*. – vyp. 95. – Ch.1. – pp. 144 – 149.

Стаття надійшла 29.10.2016.