

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач випускової кафедри

\_\_\_\_\_ М.М. Барановський

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ДИПЛОМНА РОБОТА

(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)

ВИПУСКНИКА ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

ЗА СПЕЦІАЛІЗАЦІЄЮ «ФАРМАЦЕВТИЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ»

**Тема: «Визначення рівня накопичення фікобіліпротеїнів у культурі**

***Microcystis pulverea* при дії омагніченої води»**

Виконавець: студентка групи ФБ-204м Севрук Ірина Петрівна

\_\_\_\_\_ (підпис)

Керівник: к.м.н., доцент Васильченко Ольга Анатоліївна

\_\_\_\_\_ (підпис)

Консультант з розділу «Охорона праці»:

\_\_\_\_\_ (підпис)

Павлиш В.Д.

Консультант з розділу

«Охорона навколишнього середовища»:

\_\_\_\_\_ (підпис)

Бовсуновський Є.О.

Нормоконтролер:

\_\_\_\_\_ (підпис)

Лазарєв В.Г.

Київ 2020

# НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Напрямок: 6.051401 «Біотехнологія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

\_\_\_\_\_ Барановський М.М.

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 р.

## ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

Севрук Ірини Петрівни

1. Тема дипломної роботи: «Визначення рівня накопичення фікобіліпротеїнів у культурі *Microcystis pulverea* при дії омагніченої води» затверджена наказом ректора від «14» грудня 2019 р. №594/ст.
2. Термін виконання роботи: з 14 жовтня 2019 р. по 29 грудня 2020 р.
3. Вихідні дані роботи: власні експериментальні дані, зроблені на базі Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» на кафедрі електронної інженерії; ціанобактерії *Microcystis pulverea* надані Інститутом гідробіології НАНУ, літературні джерела щодо впливу омагніченої води на живі об'єкти.
4. Зміст пояснювальної записки: **ВСТУП; РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД; РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ; РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ; ВИСНОВКИ; СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.**
5. Перелік обов'язкового ілюстративного матеріалу: 4 таблиці, 22 рисунки, 6 діаграм, 8 графіків.

## 6. Календарний план–графік

№ з/п.	Завдання	Термін виконання	Підпис керівника
1	Літературний огляд	15.10.19 – 25.10.19	
2	Робота над першим розділом дипломної роботи	26.10.19 – 08.11.19	
3	Робота над другим розділом дипломної роботи	09.11.19 – 22.11.19	
4	Проведення експериментів	23.11.19 – 13.12.19	
5	Робота над четвертим та п'ятим розділами	14.12.19 – 27.12.19	
6	Формулювання висновків	02.01.20 – 09.01.20	
7	Оформлення дипломної роботи	10.01.20 – 01.02.20	
8	Захист дипломної роботи	03.02.20	

## 7. Консультанти з окремих розділів дипломної роботи

Розділ	Консультант (посада, П.І.Б.)	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
Охорона праці	старший викладач Павлиш В.Д.		
Охорона навколишнього середовища	доц. Бовсуновський Є.О.		

8. Дата видачі завдання «**14**» **жовтня** 2020 р.

Керівник дипломної роботи \_\_\_\_\_  
(підпис керівника)

Васильченко О.А.

Завдання прийняла до виконання \_\_\_\_\_  
(підпис випускника)

Севрук І.П.

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Визначення рівня накопичення фікобіліпротеїнів у культурі *Microcystis pulverea* при дії омагніченої води»: 47 сторінок, 22 рисунка, 3 діаграми, 4 таблиці, 28 використаних джерел.

**Об'єкт дослідження** – вплив омагніченої води на рівень накопичення фікобіліпротеїнів культури ціанобактерій *Microcystis pulverea*.

**Предмет дослідження** – ціанобактерії, фікобіліпротеїни, омагнічена вода.

**Мета дипломної роботи** – визначити рівень накопичення фікобіліпротеїнів у культурі ціанобактерій *Microcystis pulverea* при дії омагніченої води.

**Методи дослідження** – мікробіологічні, фізико-хімічні, аналітичні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів** – вперше здійснено вплив омагніченою водою на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea* за допомогою магнітостимулятора МС-92М.

**Рекомендації** – матеріали дипломної роботи рекомендується використовувати під час проведення наукових досліджень і в практичній діяльності біотехнологів та науковців для стимулювання накопичення фікобіліпротеїнів з метою їх подальшого використання для задоволення потреб медицини, харчової і фармацевтичної промисловості, а саме: для одержання природних барвників, медичних препаратів і лікувально-профілактичних продуктів на основі біомаси ціанобактерій.

ЦІАНОБАКТЕРІЇ, ФІКОБІЛІПРОТЕЇНИ, ГЕТЕРОЦИСТИ,  
ОМАГНІЧЕНА ВОДА, МАГНІТОСТИМУЛЯТОР МС-92М, ТИЛАКОЇДИ,  
ФІКОЕРИТРИНИ, ФІКОЦАНИНИ, АЛОФІКОЦАНИНИ.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ.....	6
ВСТУП .....	7
РОЗДІЛ 1 .....	10
ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	10
1.1. Загальні відомості про ціанобактерії.....	10
1.1.1. Будова та основні функції ціанобактерій .....	13
1.1.2. Значення ціанобактерій .....	20
1.2. Загальна характеристика фікобіліпротеїнів.....	22
1.2.1. Структурні особливості фікобіліпротеїнів .....	23
1.2.2. Використання фікобіліпротеїнів.....	25
1.3. Характеристика омагніченої води .....	26
1.4. Висновки до розділу.....	33
РОЗДІЛ 2 .....	34
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	34
2.1. Загальна характеристика ціанобактерій <i>Microcystis pulverea</i> .....	34
2.2. Характеристика поживного середовища для культивування <i>Microcystis pulverea</i> .....	36
2.3. Проведення експерименту .....	37
2.4. Висновки до розділу.....	39
РОЗДІЛ 3 .....	40
РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ..	40
3.1. Накопичення біомаси .....	40
3.2. Вплив магнітостимулятора МС-92М на культуру ціанобактерій <i>Microcystis pulverea</i> .....	42
3.3. Відділення пігментів після дії магнітостимулятора .....	43
3.4. Обробка результатів .....	43
3.5. Висновки до розділу.....	43

РОЗДІЛ 4 .....	44
ОХОРОНА ПРАЦІ .....	44
4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори при дії омагніченої води на культуру ціанобактерій <i>Microcystis pulverea</i> .....	44
4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів при дії омагніченої води на культуру ціанобактерій <i>Microcystis pulverea</i> .....	45
4.2.1. Розрахунок освітленості лабораторії .....	47
4.3. Забезпечення пожежної і вибухової безпеки при дії омагніченої води на культуру ціанобактерій <i>Microcystis pulverea</i> .....	50
РОЗДІЛ 5 .....	52
ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА .....	52
5.1. Шляхи утилізації біомаси ціанобактерій та отримання палива .....	52
5.2. Розрахунок і вибір основного технологічного обладнання .....	53
ВИСНОВКИ .....	60
СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	61

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

- ФС I – фото-система I
- ФС II – фото-система II
- ЦПМ – цитоплазматична мембрана
- ЦТК – цикл трикарбонових кислот
- МС – мікроцистини
- t, °C – температура
- τ, хв – час
- D – оптична густина
- НС – навколишнє середовище

ПС – поживне середовище

С-ФЦ – С-фікоціанін

С-ФЕ – С-фікоеретрин

АФЦ – алофікоціанін

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Фікобіліпротеїни є основними компонентами клітин ціанобактерій. Вони мають своєрідні властивості: інтенсивне світопоглинання у видимій частині спектра та яскравій флуоресценції. Пігменти фікобіліни маскують колір основного пігменту фотосинтезу – хлорофілу та передають поглинену сонячну енергію хлорофілу *a*. Вони використовуються у медицині, а також у харчовій та фармацевтичній промисловості.

Специфічні спектральні властивості фікобіліпротеїнів дозволяють використовувати їх в імунологічних дослідженнях як флуоресцентні мітки для сортування клітин. Крім того, через характерний, яскраво виражений пік

абсорбції у видимій частині спектра вони є зручними маркерами в таких методах дослідження, як гель електрофорез, ізоелектричне фокусування, високоефективна гель хроматографія.

C-фікоціанін (фікобіліпротейн ціанобактерій) має здатність до пригнічення проліферації пухлинних клітин; зниження концентрації фактора некрозу пухлини в тканинах; інгібування окисного стресу в організмі; запобігання перекисного окиснення ліпідів, пошкодження ДНК; руйнування клітинних мембран і загибелі клітин. Він здатний відновлювати нормальне кровотворення і підвищувати імунітет.

Цей пігмент дозволяє отримувати так званий анатомічний портрет людини (селективно накопичуються в атеросклеротичних бляшках і новоутвореннях, а ультразвукове сканування дозволяє знайти вогнище ушкодження), завдяки чому його можна застосовувати в медицині для діагностичних цілей: у реакціях «антиген-антитіло» при імуноферментному аналізі, виявлення цільових субстанції в гелях та інших нерозчинних носіях, для пошуку цільових молекул білків, антигенів у крові, сечі, лікворі.

Фікоціанін має потенціал використання і в якості терапевтичного засобу у лікуванні захворювань, викликаних стресом.

Таким чином, постійне збільшення спектру використання фікобіліпротейнів сприяє проведенню подальших досліджень з метою пошуків альтернативних і доступних способів стимуляції накопичення цих пігментів.

**Мета роботи:** визначити рівень накопичення фікобіліпротейнів у культурі ціанобактерій *Microcystis pulvereae* при дії омагніченої води.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання:**

1. Проаналізувати літературні дані про морфолого-культуральні особливості ціанобактерій *Microcystis pulvereae*.
2. Дати загальну характеристику фікобіліпротейнів.



3. Дослідити вплив омагніченої води на рівень накопичення фікобіліпротеїнів культури ціанобактерій *Microcystis pulverea*

**Об'єкт дослідження:** вплив омагніченої води на рівень накопичення фікобіліпротеїнів культури ціанобактерій *Microcystis pulverea*

**Предмет дослідження:** ціанобактерії, фікобіліпротеїни, омагнічена вода

**Методи дослідження:** мікробіологічні, фізико-хімічні, аналітичні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів:** вперше здійснено вплив омагніченою водою на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea* за допомогою магнітостимулятора МС-92М. Встановлено, що при дії омагніченої води, найвищий рівень накопичення фікобіліпротеїнів, спостерігається протягом **хв, хв, хв, хв** у порівнянні з контролем.

**Практичне значення отриманих результатів.** У зв'язку із тим, що фікобіліпротеїни (пігменти ціанобактерій) мають широкий спектр використання, який постійно зростає, задля забезпечення потреб людства, існує необхідність стимулювати накопичення цих пігментів альтернативними і доступними методами. Одним із таких методів є вплив на культуру ціанобактерій омагніченої води.

**Особистий внесок випускника.** Весь обсяг експериментальних досліджень за темою дипломної роботи, аналіз літературних даних, статистична обробка результатів, їх опис та аналіз, виконані випускником особисто під керівництвом к.м.н., доцента. Васильченко О.А на базі Національного технічного університету «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» на кафедрі електронної інженерії під керівництвом д.т.н., професора Лошицького П.П.

## РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1. Загальні відомості про ціанобактерії

Ціанобактерії (лат. *Cyanobacteria*) – обширна група грамнегативних бактерій, особливістю яких є здатність до фотосинтезу. Ціанобактерії – це найбільш складно влаштовані і диференційовані прокаріоти (рис.1.1). Так як ці організми по своїй фізіології мають багато спільних рис з еукаріотичними водоростями, то згідно з деякими класифікаціями, ціанобактерії розглядаються у складі рослин як синьо-зелені водорості. В даний час в

альгології відомо більше 150 родів і близько 1000 видів ціанобактерій, бактеріологи налічують близько 400 штамів.

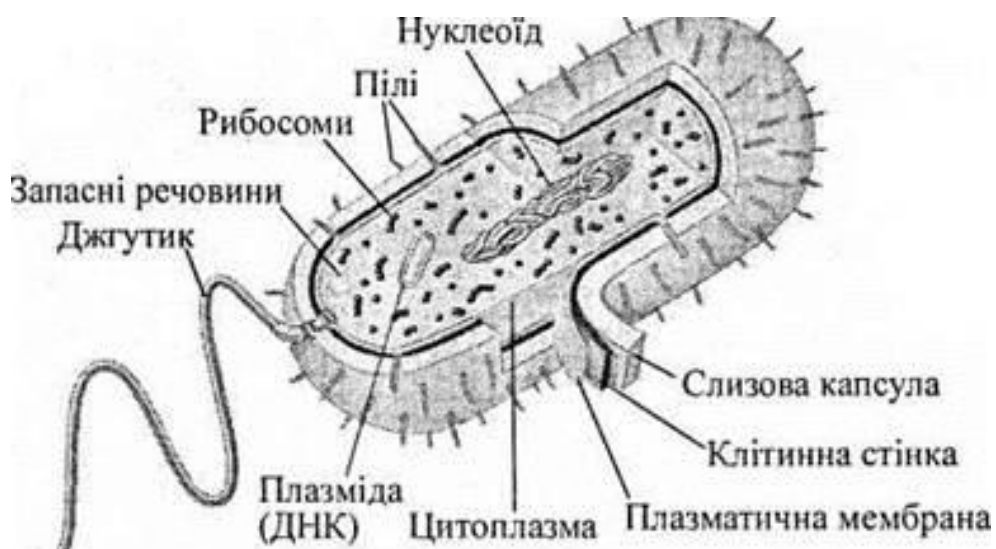


Рис.1.1 Будова клітини прокаріотів

**Ціанобактерії** найбільш близькі до найдавніших мікроорганізмів, залишки яких (строматоліти, вік більш 3,5 млрд. років) виявлені на Землі. Порівняно великі розміри клітин і фізіологічна подібність з водоростями було причиною їхнього розгляду раніше в складі водоростей. Проте біохімічна і молекулярно-генетична подібність ціанобактерій з іншими бактеріями в даний час підтверджена великою кількістю доказів.

Ціанобактерії – це одноклітинні, нитчасті і колоніальні мікроорганізми. Середній розмір клітин 2 мкм. Вони відрізняються здатністю адаптувати склад фотосинтетичних пігментів до спектрального складу світла, тому їхній колір варіює від ясно-зеленого до темно-синього. Деякі вищі азотфіксуючі ціанобактерії (*Nostocales*) здатні до диференціювання – формування спеціалізованих клітин: гетероцист і гормогоніїв.

Унікальне екологічне положення обумовлене сполученням двох важко-поєднаних здатностей: до фотосинтетичної продукції кисню і фіксації атмосферного азоту (у 2/3 вивчених видів). Життєвий цикл в одноклітинних форм при оптимальних умовах росту складає 6-12 годин.

Ціанобактерії володіють повноцінним фотосинтетичним апаратом, характерним для фото-синтетиків, які виділяють кисень. Фотосинтетичний електрон-транспортний ланцюг включає фото-систему (ФС) II, b6f-цитохромний комплекс. Кінцевим акцептором електронів служить ферредоксин, донором електронів – вода.

Світлозбираючі комплекси представлені особливими пігментами фікобілінами, зібраними (як і в червоних водоростей) у фікобілісоми. При відключенні ФС II, здатні до використання інших, екзогенних донорів електронів: відновлених з'єднань сірки, органічних сполук у рамках циклічного переносу електронів за участю ФС I. Однак ефективність такого шляху фотосинтезу невелика і він використовується переважно для переживання несприятливих умов.

Ціанобактерії відрізняються надзвичайно розвинутою системою внутрішньоклітинних втягувань цитоплазматичної мембрани (ЦПМ). Накопичена в результаті фотосинтезу енергія використовується в темнових процесах фотосинтезу для виробництва органічних речовин з атмосферного CO<sub>2</sub>.

Більшість ціанобактерій облігатні фототрофи, які здатні до нетривалого існування за рахунок розщеплення накопиченого на світлі глікогену в окисному пентозофосфатному циклі і у процесі гліколізу.

Цикл трикарбонових кислот (ЦТК) не може брати участь в одержанні енергії через відсутність кетоглутаратдегідрогенази. У зв'язку із тим, що ЦТК розірваний, це призводить до того, що ціанобактерії характеризуються підвищеним рівнем експорту метаболітів у навколишнє середовище.

Азотфіксація забезпечується ферментом нітрогеназою, який відрізняється високою чутливістю до молекулярного кисню. Оскільки кисень виділяється при фотосинтезі, в еволюції ціанобактерій реалізовані дві стратегії: просторового і тимчасового роз'єднання цих процесів. В одноклітинних ціанобактерій пік фотосинтетичної активності спостерігається

у світлий, 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 нитчатих ціанобактерій процес азотфіксації локалізований у спеціалізованих термінально диференційованих клітинах – гетероцистах, що відрізняються товстими покривами, що перешкоджають проникненню кисню.

При нестачі зв'язаного азоту в живильному середовищі колонії нараховується 5-15% гетероцист. ФС II в гетероцистах скорочена. Гетероцисти одержують органічні речовини від фото-синтезуючих членів колонії. Накопичений зв'язаний азот зберігається у гранулах ціанофіцину чи експортується у виді глютамінової кислоти.

Виділяють п'ять порядків: порядки *Chroococcales* і *Pleurocapsales* поєднують одиночні чи колоніальні порівняно прості форми, у порядки *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigoneomatales* входять нитчасті високоорганізовані форми.

Ціанобактерія *Synechocystis* стала першим фото-синтезуючим організмом, чий геном був цілком розшифрований.

В даний час ціанобактерії служать найважливішими об'єктами досліджень у біології. У Південній Америці і Китаї бактерії родів *Spirulina* і *Nostoc* через недолік інших видів продовольства використовують у їжу, висушуючи і готуючи борошно. Розглядається можливість застосування ціанобактерій у створенні замкнутих циклів чи життєзабезпечення у якості кормової та харчової добавки [1].

### **1.1.1. Будова та основні функції ціанобактерій**

Початкові дослідження будови і хімічного складу клітин ціанобактерій були здійснені за допомогою світлової мікроскопії і мікрохімічних реакцій. В

результаті цих досліджень виникло уявлення про дифузну будову протопласта ціанобактерій. Протягом останніх років будову клітини ціанобактерій було вивчено за допомогою новітніх методів цитохімії, електронної мікроскопії, фазовоконтрастної мікроскопії та ультрацентрифугування.

Довгий час існувало уявлення про дифузний розподіл пігментів в хроматоплазмі *Cyanophyta*, що істотно відрізняло їх від інших фотосинтезуючих організмів, пігменти яких зосереджені на пластинчастих структурах всередині спеціальних органодів – хлоропластів (у вищих рослин і водоростей) або хроматофорів (у фотосинтезуючих бактерій).

Тепер загально визнано, що основними структурними елементами хроматоплазми є певним чином організовані пластинчасті (ламельярні) утворення. Товщина і розташування цих пластин у різних видів ціанобактерій різні. Крім фотосинтетичних ламелярних структур в периферичній області протопласта ціанобактерій знаходять і безбарвні структурні елементи: рибосоми, ціанофіцинові зерна, різного роду кристали (наприклад, кристали гіпсу).

Протопласт ціанобактерій відділений від зовнішнього середовища декількома шарами перешкод. Внутрішня клітинна мембрана безпосередньо примикає до протопластів однією своєю стороною, а інша сторона її стикається з двошаровою клітинної оболонкою, пронизаною порами. Над оболонкою розташовується зовнішня клітинна мембрана, яка має хвилеподібний вигляд. Її гребені торкаються чохла, розташованого зовні клітини, а западини через пори оболонки з'єднуються з внутрішньою клітинною мембраною.

Оболонка клітини ціанобактерій дає реакції на целюлозу, але головні її компоненти – це слизові полісахариди і пектинові речовини. Зовнішня перешкода, яка оточує клітини ціанобактерій – клітинний чохол, що складається з декількох шарів тонких переплетених волокон. Клітинний

чохол не пов'язаний з клітинної оболонкою. Багато форм ціанобактерій утворюють ще істинний чохол, слизистий по консистенції.

Трихоми (сукупність клітин, об'єднаних в ланцюжок) і особливо малоклітинні фрагменти, так звані гормогонії, можуть вислизати із своїх істинних чохлів. Окремі частини слизових справжніх чохлів іноді відокремлюються від трихоми і можуть бути прийняті за виділення ціанобактерій, крім цього деякі ціанобактерії виділяють в навколишнє середовище значні кількості речовин, які пов'язані походженням з істинним слизовим чохлом. Ймовірно, певну роль в цьому відіграють пори, наявні в клітинних оболонках ціанобактерій.

Протоплазма *Cyanophyta* знаходиться в стані гелю, що володіє високим ступенем в'язкості, і не виявляє видимого руху на відміну від протоплазми більшості інших організмів. У здорових клітинах ціанобактерій відсутні звичайні вакуолі, але є незвичайні утворення, так звані газові вакуолі. Це газові бульбашки, які відокремлені від протоплазми ліпоїдною мембраною.

За ступенем вивченості фізіологічних особливостей різних видів *Cyanophyta* їх можна розділити на три групи. До першої групи входять добре вивчені види. У другу види, у яких добре вивчена лише якась одна сторона метаболізму (наприклад, метаболізм азоту, утворення токсинів і т. д.). До третьої групи можна віднести близько 50 видів ціанобактерій, слабо фізіологічно вивчених: інформація про них випадкова і не співпадає, по суті, про них нічого не відомо.

Незважаючи на нерівномірність і недостатність вивчення різних представників *Cyanophyta*, в даний час відомо, що на тлі загальних типових ознак у окремих видів є різноманітність деяких фізіологічних властивостей.

Серед ціанобактерій є автотрофи (єдиним джерелом вуглецю для побудови всіх речовин клітини є вуглекислота); гетеротрофи (джерело вуглецю для конструктивного метаболізму – органічні сполуки вуглецю) і міксотрофи, в яких чергуються автотрофія і гетеротрофія; азотфіксатори і

види, які не здатні до азотфіксації; термофіли і мезофіли, види, які утворюють токсини і ті, що не виділяють токсичних речовин.

Всі види *Cyanophyta* мають здатність до здійснення фотосинтезу за рахунок енергії світла. Це твердження засноване на тому незаперечному факті, що всі пігментовані ціанобактерії чудово розвиваються на світлі в середовищі, де єдиним джерелом вуглецю служить вуглекислота – гранично окислене з'єднання вуглецю, і не розвиваються в присутності одного лише цього джерела вуглецю в темряві.

Ціанобактерії здатні жити за рахунок трансформованої енергії світла, тобто вести фотосинтетичний спосіб життя. Очевидно, що трансформація світлової енергії в хімічну відбувається там, де знаходяться пігменти.

Фотохімічна активність ціанобактерій локалізована в периферичній області протопласта. Там в ламелярних утвореннях зосереджені пігменти, відновлювальні ферментні системи і метахроматичні зерна, що містять фосфати. Фотосинтетичне фосфорилування, а цілком можливо й інші первинні реакції фотосинтезу ціанобактерій, пов'язані з пігментами, що знаходяться всередині ламел (хлорофіл і каротиноїди) або поблизу від них (біліхромопротеїди) [2].

Ціанобактерії відрізняються різноманітною морфологією. Загальне в структурі будь-якого виду ціанобактерій – це слизова оболонка (глікокалікс із пептидогліканів) і відсутність джгутиків. Слизову оболонку покриває зовнішня мембрана (рис.1.2).



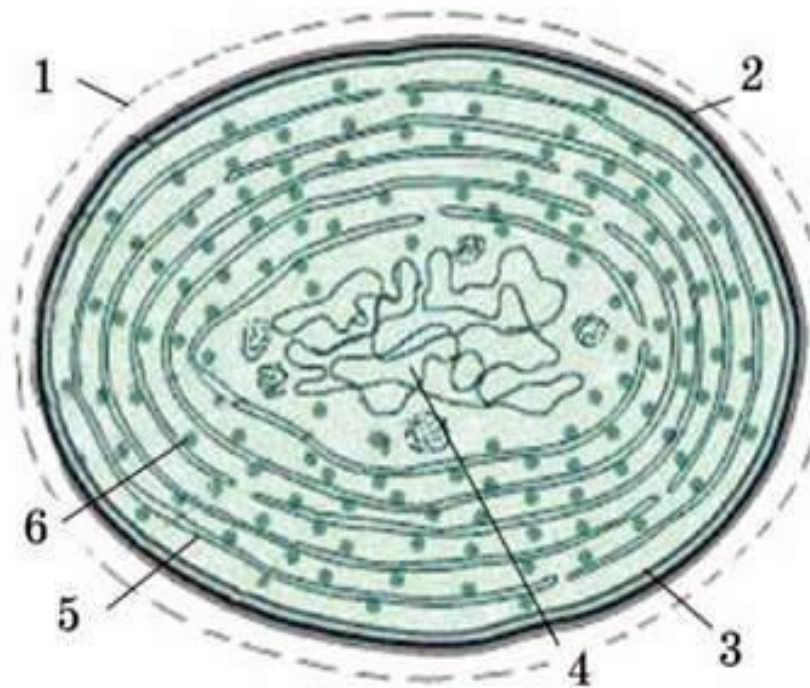


Рис.1.2 Будова клітини ціанобактерій:

1) слизова капсула; 2) клітинна оболонка; 3) клітинна мембрана; 4) ділянка цитоплазми з молекулою ДНК; 5) мембранні утвори з хлорофілом; 6) включення.

Розміри клітин ціанобактерій можуть бути від 1 мкм до 100 мкм. Колір різних видів міняється від світло-зеленого до темно-синього у зв'язку із здатністю змінювати співвідношення фотосинтетичних пігментів в клітині відповідно спектральному складу світла.

Ціанобактерії – одноклітинні організми, можуть формувати колонії, відомі нитчасті форми. Розмножуються ціанобактерії, як і бактерії, поділом клітин навпіл або частинами колоній. Поділ ниток на частини здійснюється за участю гетероцист (рис.1.3), по яких відбувається розрив. Тривалість життєвого циклу при сприятливих умовах становить 6 – 12 годин.

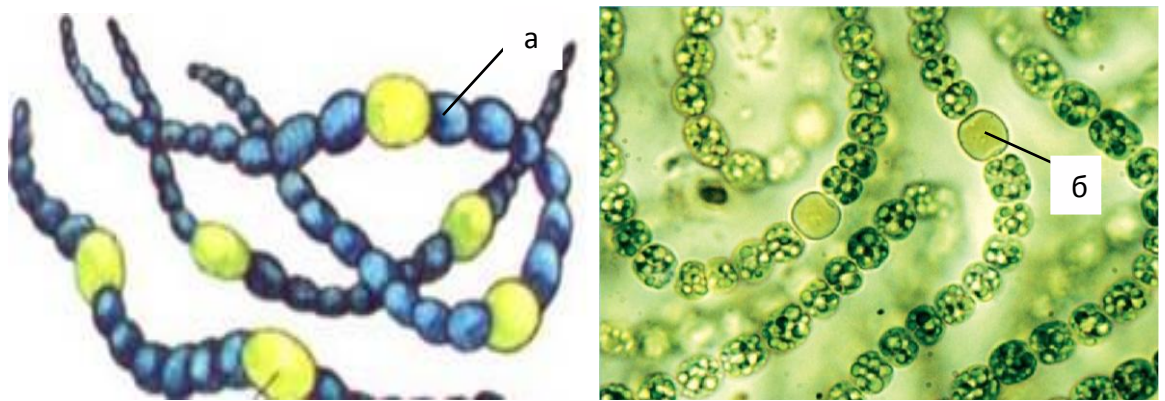


Рис.1.3 Гетероцисти ціанобактерій: а), б).

Клітина ціанобактерій укрита оболонкою, навколо якої є слизова капсула, що виконує захисну та рухову функції. Цитоплазма має два шари: фотосинтезуючий і спадковий. Зовнішній фотосинтезуючий шар містить пігменти, які здійснюють фотосинтез. У центрі клітини міститься нуклеоїд. Ще є вакуоля із запасними речовинами й так звані «газові вакуолі», заповнені азотом, завдяки їм уся маса ціанобактерій спливає на поверхню, ближче до сонячних променів [3].

Ціанобактерії за будовою клітин, організацією генома, його складом та властивостями, належать до прокариотів. На відміну від фотосинтезуючих бактерій, ціанобактерії мають такі ж пігменти, як і зелені рослини. У них синьо-зелене, рожеве тощо забарвлення, вони представлені одноклітинними або нитчастими формами, найчастіше мікроскопічні, але іноді можуть утворювати значні скупчення заввишки до 20 см. Розмножуються поділом (одноклітинні), фрагментами ниток (нитчасті форми). Поширені в найрізноманітніших умовах у водоймах і на суші. Можуть вступати у симбіотичні відносини з іншими організмами: одноклітинними водоростями, які втратили хлоропласти, найпростішими, грибами (лишайники), мохоподібними, папоротеподібними тощо.

Забарвлення ціанобактерій визначається зеленими та особливими синіми пігментами. Завдяки такому наборові фотосинтезуючих пігментів ціанобактерії заселили навіть глибокі печери, де вдовольняються

слабенькими проблесками світла. Фотосинтез у цих організмів, як і в рослин, супроводжується виділенням кисню.

Ціанобактерії за типом живлення є автотрофами. Для багатьох видів характерний мішаний тип живлення: за наявності світла – вони фотосинтезують, а за відсутності – поглинають з довкілля готові органічні речовини. Джгутиків і війок ціанобактерії не мають, але все ж здатні переміщуватися. Вони ковзають опорною поверхнею, обертаються навколо довгої осі внаслідок виділення слизу.

У ціанобактерій, що живуть серед планктону, є газові везикули, що містять газ і надають клітинам кращу плавучість. Деякі ціанобактерії здатні до клітинного диференціювання. Одним з типів спеціалізованих клітин є спори – це великі клітини з потовщеною оболонкою, які знаходяться у стані спокою. Вони служать для виживання організму в несприятливих умовах. При настанні оптимальних умов спори проростають. Іншим типом диференційованих клітин є гетероцисти – спеціалізовані клітини, в яких здійснюється процес фіксації атмосферного азоту. Їх можуть утворювати деякі нитчасті ціанобактерії (*Anabaena*, *Nostoc*) [4].

Специфічними запасними речовинами ціанобактерій є ціанофіцинові гранули. Хімічний аналіз показав, що вони складаються з поліпептиду, що містить аргінін і аспарагінову кислоту в еквімолярних кількостях. Остов молекули побудований із залишків аспарагінової кислоти, з'єднаних пептидними зв'язками, а до її бета-карбоксільних груп приєднані залишки аргініну.

Для синтезу ціанофіцину необхідні затравка, молекули АТФ, іони  $K^+$  і  $Mg^{2+}$ , процес не закодований в іРНК і не пов'язаний з рибосомами. Поява ціанофіцинових гранул при культивуванні ціанобактерій в середовищі з азотом, і їх зникнення при виснаженні середовища по азоту вказують на те, що вони в клітині служать резервом азоту, що мобілізується при його нестачі в середовищі.

У клітині кожного організму є повноцінний апарат для здійснення фотосинтезу із виділенням кисню. Енергія, отримана за допомогою фотосинтезу, використовується для продукування органічних речовин з CO<sub>2</sub>.

Фотосинтетичний апарат представлений тилакоїдами – здвоєними мембранами. Їх кількість і характер розташування різний у різних видів ціанобактерій. На поверхні тилакоїдів знаходяться фікобілісоми – структури, що вловлюють фотони світла і передають їх реакційним центрам фотосинтетичного апарату.

Синьо-зелений колір ціанобактерій, обумовлений наявністю зеленого пігменту – хлорофілу а, і синього пігменту – фікоціаніну, у деяких видів є ще червоний пігмент, фікоеритрин. Клітина ціанобактерій містить також карбоксисоми – багатогранні тіла, утворені молекулами ключового ферменту фотосинтезу –рибулозодифосфаткарбоксилази. Ці карбоксисоми служать для збільшення концентрації CO<sub>2</sub> поблизу головного ферменту циклу Кальвіна. Ціанобактерії мають вуглець-концентруючий механізм, який і дозволяє їм створювати великі концентрації вуглецю в клітині [5].

Переважає більшість ціанобактерій являються облігатними фототрофами. Але вони можуть протягом короткого періоду часу існувати за рахунок витрачання накопиченого на світлі глікогену. На відміну від рослин і більшості бактерій, ціанобактерії здатні до азотфіксації. Фіксація азоту відбувається в гетероцистах – великих клітинах, які утворюються в нитчастих форм.

### **1.1.2. Значення ціанобактерій**

Ціанобактерії – найдавніші організми серед тих, які здатні виділяти кисень. Саме вони сприяли підвищенню в первісній атмосфері вмісту кисню, що зробило можливим існування на планеті грибів, рослин і тварин. Відмираючи, вони беруть участь у створенні гірських порід і ґрунтів. Однак ціанобактерії можуть завдавати природі й людині великих збитків. Так,

масове скупчення ціанобактерій разом з мікроскопічними водоростями біля поверхні води зумовлює її «цвітіння». При цьому вода забарвлюється в синьо-зелений або коричневий колір і набуває болотного запаху, спричиненого процесами гниття.

Деякі ціанобактерії людина вживає в їжу. Зі спіруліни одержують харчовий білок (спірулін), який використовують як добавку до їжі. На плантаціях рису ціанобактерії використовують як добриво завдяки здатності їх до азотфіксації (наприклад анабена в співіснуванні з папороттю азолюю).

Деякі види ціанобактерій вступають в симбіотичні відносини з лишайниками, рослинами, протистами або губками і забезпечують свого симбіонта продуктами фотосинтезу. Деякі живуть в хутрі лінивців, забезпечуючи камуфляжний колір. Ціанобактерії складають значну частку океанічного фітопланктону.

Деякі види токсичні (найбільш вивчений токсин – мікроцистин, що продукується, наприклад, видом *Microcystis aeruginosa*) або умовно-патогенні (вид *Anabaena*).

Ціанобактерії є унікальною екологічною групою, яка поєднує здатність до фотосинтетичної продукції кисню та фіксації атмосферного азоту (у 2/3 вивчених видів). Ціанобактерії – єдина група організмів, які можуть зв'язувати азот і вуглець в умовах аеробів.

Будучи значною складовою частиною океанічного планктону, ціанобактерії стоять на початку більшої частини харчових ланцюгів і виробляють більшу частину кисню [3].

Ці мікроорганізми в найбільшою мірою незалежні від середовища. Для побудови всіх клітинних структур, що складаються з складних органічних полімерів, ціанобактеріям необхідні тільки вода, вуглекислий газ, молекулярний азот, незначні концентрації сірки, фосфору і металів, а також сонячне світло. Все це практично зустрічається на землі повсюдно. Вирішальний момент у досягненні цієї вершини еволюції мікроорганізмів: вперше здобута предками ціанобактерій здатність мобілізувати для своїх

конструктивних процесів електрони води. Використання води в якості донора електронів і протонів супроводжувалося виділенням в атмосферу молекулярного кисню. З цього моменту розпочався новий етап еволюції живих систем вже в умовах «кисневої» Землі. Цей етап еволюції призвів до колосальної морфологічної різноманітності живих істот на Землі.

Але ціанобактерій, судячи з усього, мало змінилися з тих далеких часів. Досягнута ними гранична автотрофність, а можливо, і своєрідна будова протопластів і консервуючі чохла навколо клітин – ось ті чинники, які зробили їх незмінними протягом тисячоліть, найдавнішими «живими копалинами» на Землі [2].

## **1.2. Загальна характеристика фікобіліпротеїнів**

Ціанобактерії при фотосинтезі можуть використовувати сонячну енергію в більш широкому спектрі, ніж інші фотосинтетики, що обумовлено особливостями їх пігментної системи. Склад пігментів і їх кількість можуть різко змінюватися в залежності від умов освітлення, наявності в середовищі речовин, що визначають енергетичні і конструктивні процеси ціанобактерій[4].

Культура ціанобактерій *Microcystis pulverea* містить у своєму складі такі пігменти: хлорофіли, каротиноїди, а також фікобіліпротеїни, які володіють низкою властивостей, завдяки чому широко використовуються, як у харчовій так і у фармацевтичній промисловості. При використанні кожного із перерахованих пігментів є дієві схеми і способи отримання цільових продуктів, але головним завданням є пошук альтернативних способів, які сприятимуть підвищенню продуктивності продукту та зменшенню витрат при виробництві.

Так як фікобіліпротеїни є предметом дослідження даної дипломної роботи, доцільно детальніше розглянути цей пігмент, характеристика якого наведена нижче.



### 1.2.1. Структурні особливості фікобіліпротеїнів

Ціанобактерії на відміну від вищих рослин і бактерій містять, крім хлорофілу і каротиноїдів, водорозчинні пігменти фікобіліпротеїни – хромопротеїни, до складу небілкової частини яких входять хромофори фікобіліни (аналоги жовчних кислот), які володіють здатністю маскувати колір хлорофілу. Вони є основними поглинаючими світло пігментами у ціанобактерій, а також у червоних водоростей (Rhodophyta) і деяких криптофітових водоростей (*Cryptophyta*) [5].

Завдяки властивості фікобілінів поглинати світло в широкому діапазоні довжин хвиль, в середині видимої області частини спектру між основними областями поглинання хлорофілу (в помаранчевій, жовтій і зеленій частинах спектра) водорості повніше використовують світло, що проникає у воду [6].

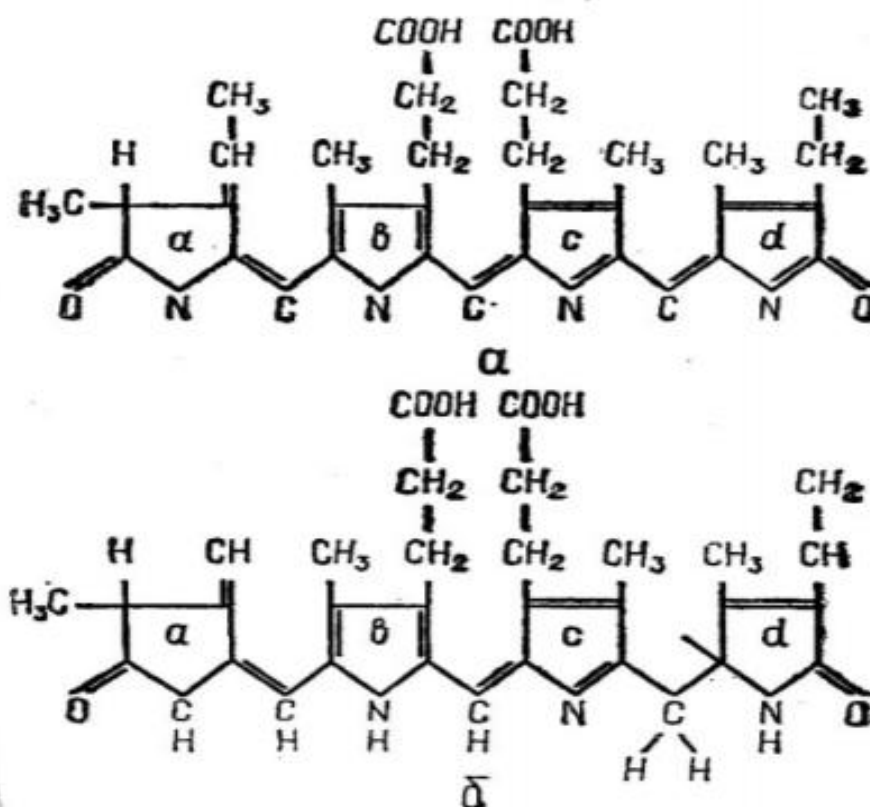


Рис.1.4 Хімічна структура хромофорів фікобіліпротеїнів [7]:

а) фікоціанобілін – хромофор фікоціаніну і аллофікоціаніну; б) фікоеритробілін – хромофор фікоеритрину

Фікобіліни – похідні тетрапіролу, ковалентно зв'язані з білком типу глобуліну (з апопротеїном). Фікобіліни складаються з чотирьох пірольних кілець, але не замкнених, як у молекулі хлорофілу. Вони мають вигляд розгорнутого ланцюга, який не містить металу (рис. 1.4).

З ціанобактерій виділені в кристалічному вигляді три фікобіліпротеїни, що відрізняються за спектрами поглинання [7]. Два блакитних пігменти (фікоціанін і аллофікоціанін) мають максимуми поглинання при 615 та 650 нм, фікоеритрин – при 540–565 нм.

Фікоеритрин не завжди наявний в клітинах ціанобактерій, він зустрічається в основному у нитчастих форм. Молекули фікобіліпротеїнів складаються з двох нековалентно зв'язаних субодиниць –  $\alpha$  та  $\beta$ , до кожної з яких приєднані хромофори – фікоеритробілін і фікоціанобілін. Відмінності в спектральних властивостях фікобіліпротеїнів визначаються амінокислотою послідовністю  $\alpha$  – та  $\beta$  – поліпептидів, числом і типом приєднаних до них хромофорів. Наприклад, у складі фікоціаніна *Synechococcus sp.* переважають аланін, аспарагін, гліцин, глютамінова кислота, серин, лейцин;  $\alpha$ -субодиниця містить відносно більше тирозину, триптофану і лізину,  $\beta$ -субодиниця – більше аланіну, аргініну, валіну, метіоніну.

Слід зазначити, що  $\alpha$ - та  $\beta$ -субодиниці значно розрізняються за амінокислотним складом. В  $\alpha$ -субодиниці багатьох видів ціанобактерій амінокислоти розташовані в наступному порядку: метіонін (валін), лізин, треонін, пролін, лейцин; в  $\beta$ -субодиниці – метіонін, лейцин, аспарагін, аланін, фенілаланін, лізин, валін [8].

Пігменти ціанобактерій фікобілінів локалізуються в специфічних структурах – фікобілісомах, які являють собою високоорганізовані білкові комплекси, прикріплені до зовнішньої поверхні мембрани. Відстань між рядками фікобілісом становить 40-50 нм.

Молекули аллофікоціаніну складають внутрішнє ядро фікобілісоми. До нього примикають розбіжні в різні сторони паличкоподібні утворення, побудовані з молекул фікоціаніну і фікоеритрину, останній розташовується



на периферичній частині цієї структури. У видів, що не містять фікоеритрин, паличкоподібні утворення складаються тільки з фікоціаніну.

### 1.2.2. Використання фікобіліпротеїнів

Відповідно до спектрів поглинання у кристалічному вигляді виділяють три типи фікобіліпротеїнів:

- *Фікоеритрини* – білки червоного кольору з максимумом поглинання від 540 нм до 565 нм;
- *Фікоціаніни* – білки синьо-блакитного кольору з максимумом поглинання від 615 нм до 630 нм
- *Алофікоціаніни* – білки синього кольору з максимумом поглинання від 615 нм до 650 нм.

У складі біомаси фікоціаніни представлені декількома ізоформами, такими як аллофікоціанін і С-фікоціанін [9]. Його вміст може становити в середньому від 4 до 9 % від маси сухих речовин [10]. С-фікоціанін є активним антиоксидантом, він здатний пригнічувати проліферацію пухлинних клітин, знижувати концентрацію фактора некрозу пухлини в тканинах, інгібувати окисний стрес в організмі, запобігати перекисному окисненню ліпідів, пошкодженню ДНК, руйнуванню клітинних мембран і загибелі клітин, здатний відновлювати нормальне кровотворення і підвищувати імунітет.

Фікоціанін дозволяє отримувати так званий анатомічний портрет людини (він селективно накопичується в 26 атеросклеротичних бляшках і новоутвореннях, локалізація яких визначається ультразвуковим скануванням) [11]. Фікоціанін відомий також як харчовий барвник [12]. Він володіє інтенсивним максимумом поглинання у видимій області спектра при довжині хвилі 620 нм.

Розчини фікоціаніна високого ступеня очищення мають інтенсивний синій колір. Однак інші пігменти (хлорофіли, каротиноїди) погіршують

чистоту кольору, зрушуючи його в бік жовтозеленого. Для використання в якості натурального харчового барвника С-фікоціанін повинен бути в достатній мірі очищений. Ступінь очищення визначається показником, що вимірюється відношенням оптичних густин при двох довжинах хвиль: D620/D280.

У водному екстракті цей показник становить 0,3 – 0,4. Ця величина відповідає вмісту фікоціаніна 6-8 % від загального білка. У фікоціаніні 100%-ї чистоти цей показник становить 4,98. Для використання в харчовій промисловості препарату С-фікоціаніна співвідношення D620/D280 повинно бути не менше 2, що відповідає вмісту основної речовини фікобіліпротеїнів 40 % [11].

Специфічні спектральні властивості фікобіліпротеїнів дозволяють використовувати їх в імунологічних дослідженнях як флуоресцентні мітки для сортування клітин. Крім того, через характерний, яскраво виражений пік абсорбції у видимій частині спектра вони є зручними маркерами в таких методах дослідження, як гель електрофорез, ізоелектричне фокусування, високоефективна гель хроматографія. Фікоціанін має потенціал використання і в якості терапевтичного засобу у лікуванні захворювань, викликаних стресом.

Таким чином, постійне збільшення спектру використання фікобіліпротеїнів сприяє проведенню подальших досліджень з метою пошуків альтернативних і доступних способів стимуляції накопичення цих пігментів.

### **1.3. Характеристика омагніченої води**

Цікаві зміни відбуваються у воді під впливом магнітного поля.

Ще в 30-х роках радянські фізики Р. Берлаге, Ф. Горський, Р. Міхневич та ін. виявили, що при обробці перенасичених водяних розчинів магнітним полем помітно змінюється процес випадання кристалів. Було помічено

також, що знову придбані властивості води після видалення її з магнітного поля зберігаються кілька днів: вода «пам'ятає» магнітне поле.

Особливо цінні результати по вивченню впливу електромагнітного поля на фізико-хімічні властивості води отримані радянським вченим, доктором технічних наук В. І. Класеном та його колегами. Було встановлено, що під дією магнітного поля вода змінює свої основні фізико-хімічні властивості: густину, поверхневий натяг, електропровідність. Особливо помітно змінюється розчинність солей. Виявилось, що намагнічена вода, як правило, майже не утворює накипу на стінках котлів.

Боротьба з накипом на стінках котлів і відкладеннями на стінках трубопроводів здавна належить до числа найбільш складних інженерних проблем. Володіючи низькою теплопровідністю, шар накипу збільшує витрату палива на обігрів котлів, змушує підвищувати робочі температури в топці, що призводить до передчасного зносу деталей і породжує небезпеку вибуху при перегріві. Відкладення на стінках трубопроводів невблаганно зменшують їх пропускну здатність. Одне з ефективних засобів боротьби з накипом — омагнічування води. В такому випадку замість міцного шару накипу, який так важко видаляти, утворюється пухкий, що легко змивається, порошок. Магнітна обробка води, як показала практика, не вимагає ні капітальних витрат, ні реконструкції підприємства.

Намагнічена вода знаходить все більш широке застосування і в процесах збагачення корисних копалин. Магнітна обробка пульпи на 40% підвищує швидкість флотації фосфорних руд і кольорових металів. Можна навести чимало й інших прикладів впливу омагніченої води на речовину. Вона, наприклад, значно прискорює твердіння бетону.

Цікаві дослідження з питання впливу омагніченої води на живі біологічні об'єкти виконані радянським ученим Н. Б. Адирхаєвим. Він встановив, зокрема, що вплив самого магнітного поля безпосередньо на організм незначний, але стає дуже сильним, якщо це пов'язано з водою, що пройшла магнітну обробку. Адирхаєв поставив цікавий експеримент.

Зазвичай для отримання магнітної води воду пропускають через зазор між різними полюсами магніту — «північним» і «південним». Учений поступив інакше. Він побудував спеціальну установку, за допомогою якої можна отримувати уніполярні поля.

Омагнічуючи воду лише північним або південним полюсом магніту, Адирхаєв отримав воду з дещо незвичайними властивостями. Якщо вода, що пройшла обробку магнітом з двома полюсами, здатна зберігати нові властивості в середньому лише протягом трьох діб, то вода, оброблена на уніполярній магнітній установці, не втрачає набутих властивостей протягом декількох тижнів. Експерименти з уніполярною водою дозволили отримати цікаві результати в біологічних дослідженнях. Зафіксовані, наприклад, факти збільшення потомства у білих щурів, збільшення у вазі курчат, що деякий час пили уніполярну воду.

У чому ж причина такого незвичайного впливу омагніченої води на об'єкти живої і неживої природи? Вчені пояснюють це зміною геометричної структури молекули води під дією магнітних полів. Як відомо, молекули води відчують досить сильне взаємне тяжіння. Завдяки тому, що заряди в молекулі води розташовуються за схемою тетраедра, кожна молекула може легко зв'язуватися з іншими за допомогою однакових водневих зв'язків. Тому маса води являє собою скупчення окремих молекул -цілі агрегати, що складаються з молекул. Цим, наприклад, пояснюється дивно правильна, симетрична структура сніжинок і кристалів льоду. Але якщо це дійсно так, то можна припустити, що магнітна обробка води певним чином орієнтує і перебудовує її молекули, а це в свою чергу веде до зміни фізико-хімічних властивостей води.

Процес омагнічування води і загадкові явища, пов'язані з ним, викликали низку дискусій [13].

Магнітне поле являє собою характеристику матерії, за допомогою якої відбувається взаємодія між електричними зарядами, що рухаються, (спіновими магнітними моментами атомних носіїв магнетизму) або не

скомпенсованими молекулярними струмами в постійних магнітах. Скрізь, де існує електричний заряд, що рухається (струм), виникає електромагнітне поле. На відміну від електричного поля магнітне діє тільки на електричні заряди, що рухаються.

Постійне магнітне поле утворюється постійними електричними струмами або збуджується постійним магнітом. Дія магнітних полів (особливо перемінних) на речовини, у тому числі і тканині організму, відбувається через заряджені частки, що рухаються, або частки з власним магнітним моментом.

Усі структурні елементи речовини є джерелами магнетизму, тому що мають магнітний момент і, отже, магнітні властивості. В основному магнетизм у речовині виникає внаслідок того, що електрони володіють власним магнітним моментом - спіном (електронний магнетизм). Атомні ядра і їхні складені елементи також є джерелом орбітального (зв'язаного з рухом нуклонів) і спінового ядерного магнетизму.

Магнітний стан речовини характеризується величиною результуючого магнітного моменту. Чим більше ця величина, тим більшому впливові піддається речовина в даному магнітному полі.

У залежності від впливу на напруженість зовнішнього магнітного поля, усі речовини по магнітних властивостях розділяються на два типи. Речовини, що послабляють зовнішнє магнітне поле, називаються *діамагнітними*. Діамагнетизмом володіють, дуже багато речовин, тому що він зв'язаний з рухом електронів. До них, зокрема, відносяться вода, багато органічних речовин, деякі шляхетні метали і т.д.

Речовини, що підсилюють зовнішнє магнітне поле, називаються *парамагнітними*. До парамагнітних речовин відносяться гази, лужні і лужно-земельні метали, розчини їхніх солей і ін. Для більшості парамагнітних і діамагнітних речовин власне магнітне поле, що утворюється при намагнічуванні, мізерно по напруженості, а отже, зовнішнє магнітне поле буде слабо впливати на енергетику їхніх молекул.

Серед парамагнетиків особливо виділяється група речовин, названих феромагнітними. Вони відносяться до сильномагнітних речовин і характеризуються досить високим ступенем намагнічування. Феромагнетиками є деякі метали (залізо, кобальт, нікель і ін.), їхні сплави і з'єднання. Органічні сполуки, у тому числі і біологічні тканини, по своїх магнітних властивостях можуть відноситися як до діамагнітних, так і до парамагнітних речовин.

Оскільки біологічні системи це слабкомагнітні речовини, то пояснити вплив на них слабких магнітних полів (5-50 мТл, тобто використовуваних з лікувальними цілями) рівнем їхньої магнітної сприйнятливості досить важко, що і порушує питання про механізми взаємодії МП із живими організмами в ряд полемічних. Однак уже сьогодні можна назвати ряд ймовірних гіпотез, що пояснюють механізм первинної (фізико-хімічної) дії постійних і перемінних магнітних полів на біологічні об'єкти.

Орієнтаційні і концентраційні ефекти діа- і парамагнітних молекул, що входять до складу біологічних об'єктів, незначні по своїй величині, тому що їхня магнітна енергія менше енергії теплового руху. Але до складу тканин входять макромолекули, що є великими анізотропними діамагнітними з'єднаннями. Їхня магнітна енергія, розрахована на молекулу, може перевищувати енергію теплового руху, а тому магнітні поля навіть терапевтичних дозувань здатні викликати орієнтацію і концентраційні зміни біологічно активних макромолекул (ферментів, нуклеинових кислот, складних протеїнів і ін.). Під впливом магнітного поля в них відбувається виникнення зарядів і зміна їхньої магнітної сприйнятливості, що також пояснює деякі особливості механізму дії цього лікувального фізичного фактора на біологічні об'єкти.

Вплив магнітного поля на біологічні об'єкти може реалізовуватися через хімічні реакції, що протікають по вільно-радикальному механізму. Це тим більше ймовірно, що магнітна сприйнятливість вільних радикалів значно більше, ніж у найдужчих діамагнетиків і багатьох парамагнетиків. При

оцінці біологічної значимості цього механізму первинної дії магнітного поля варто враховувати дві обставини. По-перше, до числа вільно-радикальних відносяться реакції, що протікають за участю кисню, багатьох енергетичних субстратів, а також більшість ферментативних реакцій, тобто найбільш важливі для життєдіяльності організму процеси. По-друге, ендогенний рівень вільно-радикальної активності в різних тканинах далеко не однаковий, що може в якомусь ступені визначати і виборчий характер біологічної дії магнітного поля.

Багатьма авторами в механізмі первинної дії магнітного поля велике значення надається орієнтаційній перебудові рідких кристалів, що складають основу багатьох внутрішньоклітинних структур. Рідкі кристали мають анізотропію магнітних властивостей, що спричинена, головним чином через наявність в їхній структурі бензольних кілець. Деформації рідкокристалічних структур, що відбуваються при цьому, (мембрани, мітохондрії й ін.) можуть позначитися на їхній проникності, що грає важливу роль у регуляції біохімічних процесів і виконанні ними біологічної функції.

Біологічну дію магнітного поля, очевидно, можна пояснити з позиції їхнього впливу на деякі фізико-хімічні властивості води (поверхневий натяг, в'язкість, діелектрична проникність і ін.). Вона володіє особливими електричними властивостями, представляючи собою своєрідний динамічний сегнетоелектрик. Під впливом зовнішніх магнітних полів збільшується стійкість структури води клітини, що повинно змінювати обмін речовин у ній. Зміна властивостей та структури води під дією магнітного поля може бути однією з причин його впливу на фізико-хімічні процеси в організмі. Це може позначатися також на виконанні своїх специфічних функцій молекулами білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів і інших макромолекул, що утворюють з водою єдину систему. Зміна фармакологічної активності омагнічених водних розчинів ліків також у значній мірі обумовлена впливом магнітного поля на воду.

Одним з важливих регуляторних механізмів у живих системах є активність іонів. Збільшення під впливом магнітного поля іонної активності в тканинах, підтверджене експериментально і є поза сумнівом передумовою до стимуляції клітинного метаболізму. Отже, утворення активних форм іонів - реальний механізм первинної дії магнітного поля.

Реальними постають і деякі інші макроскопічні ефекти, що виникають під дією магнітного поля. Одним з таких ефектів є магнітогідродинамічне гальмування циркуляції рідин у живому об'єкті. Магнітні поля напруженості, яку застосовують у медицині, можуть впливати на плин біологічних рідин у великих судинах. Зі зменшенням діаметра судини магнітогідродинамічний ефект слабшає. У магнітному полі можуть орієнтуватися не тільки біологічно активні макромолекули, але і надмолекулярні і клітинні структури. Орієнтація ланцюжків еритроцитів при дії магнітного поля є одним із прикладів такої орієнтації. Серед можливих макроскопічних ефектів магнітних полів часто згадується їх пондеромоторна дія на нервові стовбури і м'язові волокна.

Наслідком цього буде зміна їх електрофізіологічної активності і функціональних властивостей. У перемінному магнітному полі крім діамагнітної і парамагнітної взаємодії відбувається взаємодія з перемінним електричним полем, що виникає при будь-якій зміні магнітного поля [18].



#### 1.4. Висновки до розділу

Ціанобактерії *Microcystis pulverea* належать до грамнегативних бактерій, особливістю яких є здатність до фотосинтезу, це найбільш складно організовані і диференційовані прокаріоти. Клітина ціанобактерій укрита оболонкою, навколо якої є слизова капсула, що виконує захисну та рухову функції. Цитоплазма має два шари: фотосинтезуючий і спадковий. Наявна вакуоля із запасними речовинами й так звані «газові вакуолі», заповнені азотом. Розмножуються поділом (одноклітинні форми), спорами, фрагментами ниток (нитчасті форми). Вони поширені в морях і прісних водоймах, ґрунтовому покриві, швидко адаптуються до геохімічних і кліматичних змін, в тому числі до антропогенних модифікацій водного середовища.

Фікобіліпротеїни є основними компонентами ціанобактеріальної клітини, які можуть складати до 40% клітинного білка. Ціанобактерії, володіючи таким набором пігментів, здатні найбільш повно, порівняно з іншими організмами, використовувати видиму частину спектру сонячного світла. Специфічні спектральні властивості фікобіліпротеїнів дозволяють використовувати їх в імунологічних дослідженнях як флуоресцентні мітки для сортування клітин. Крім того, через характерний, яскраво виражений пік абсорбції у видимій частині спектра, вони є зручними маркерами в таких методах дослідження, як гель електрофорез, ізоелектричне фокусування, високоефективна гель хроматографія. Фікоціанін має потенціал використання і в якості терапевтичного засобу у лікуванні захворювань, викликаних стресом. Він здатен зв'язувати вільні радикали. Ґрунтуючись на здатності С-фікоціаніна запобігати пошкодженню нейронів головного мозку, його пропонують використовувати для лікування Альцгеймера і Паркінсона. Фікоціанін володіє також антивірусною активністю.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Загальна характеристика ціанобактерій *Microcystis pulverea*

*Microcystis* – ціанобактерія, що складається з великої кількості поодиноких клітин, розташованих у слизових колоніях неправильної форми. Кожна клітина має сферичну форму (за винятком клітин, що перебувають у стані поділу). Розмноження відбувається фрагментацією колоній та поділом клітин навпіл. Найвідомішими представниками роду є *Microcystis aeruginosa* та *Microcystis pulverea*, які є небезпечними збудниками «цвітіння» води у стоячих та повільно текучих прісних водоймах [14].

*Microcystis pulverea* (рис.2.1) відноситься до класу *Chroococcaceae*, порядку *Chroococcales*, сімейства *Microcystidaceae*, роду *Microcystis* виду *M. pulverea*. Утворює щільні слизові безформні скупчення з дуже дрібних сферичних клітин.

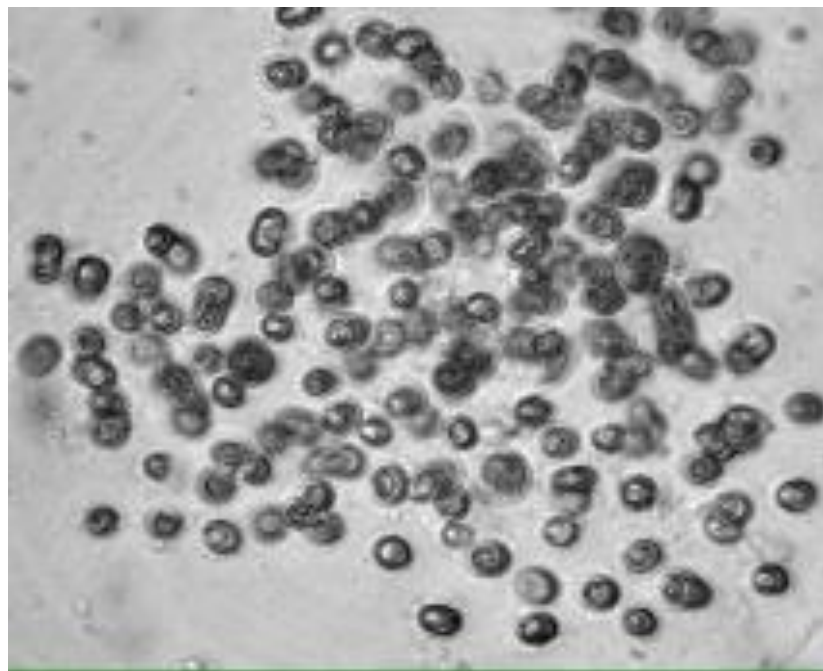


Рис.2.1 Колонії ціанобактерій *Microcystis pulverea*

*Microcystis pulverea* – вільно живуча грамнегативна ціанобактерія, яка мешкає в ґрунті, болотах і прибережних морських середовищах, так само як на тканинах рослин і тварин. [15].

*Microcystis pulverea* має такі характеристики:

- структура слані (талому): коковидна, одноклітинна;
- біологічна особливість: не прикріплена водорість, колоніальна;
- відсутність ядра;
- форма колоній: куляста;
- форма клітин : куляста;
- діаметр клітин: 2-3μ;
- відсутність гетероцисти – клітини, що спеціалізується на фіксації азоту;
- відсутність вакуолей;
- наявність слизистої оболонки;
- характер слизистої оболонки: щільна;
- фотосинтезуючі пігменти: хлорофіл А, каротини, фікоеритрин, фікоціанін, аллофікоціанін;
- запасні речовини: глікоген, протеїни;
- живлення: автотрофне, міксотрофне;
- розмноження: діленням клітин;
- екологічна група: донно-планктонна;
- значення: служить їжею для риб і бере участь в біологічному очищенні вод [16].

## 2.2. Характеристика поживного середовища для культивування *Microcystis pulverea*

Середовищем для вирощування досліджуваної культури ціанобактерій було обрано середовище Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема. В склад даного середовища входять(г/л):

- $\text{NaNO}_3$  – 0,496;
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,039;
- $\text{MgSO}_4$  – 0,075;
- $\text{CaCl}_2$  – 0,036;
- $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  – 0,058;
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – 0,020;
- $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}\cdot n\text{H}_2\text{O}$  – 0,006;
- $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  – 0,006;
- трилон Б – 0,001;
- мікроелементи маточного розчину – 0,08 мл.

До маточного розчину мікроелементів належать такі елементи: залізо, марганець, цинк, мідь, бор, кремній, молібден, хлор, ванадій і кобальт. Замість нітрату натрію можна додати сечовину 1,054 г на 6 л. Середовище розводять до робочого об'єму (1 л). При приготуванні середовища всі солі додаються у вказаному порядку. Наступну сіль додають до середовища лише після повного розчинення попередньої.

Реактиви для приготування поживного середовища повинні бути хімічно чистими, оскільки ціанобактерії досить чутливі до забруднень. Цитрат заліза розчиняють окремо при нагріванні та додають вже до стерильного поживного середовища, після чого додають мікроелементи також в стерильних умовах.

Після стерилізації перевіряють рН середовища, воно повинне бути в межах 7,0 – 7,6. У випадку, коли середовище кисле, до нього по краплях

додають луг (соду  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  або 25 % розчин  $\text{KOH}$ ), а у випадку надмірної лужності додають розбавлену сірчану кислоту [17].

### 2.3. Проведення експерименту

Для проведення експериментальної частини дипломної роботи використовувались ціанобактерії *Microcystis pulverea*, надані Інститутом гідробіології НАНУ. Культивування ціанобактерій здійснювалось на середовищі Фітцджеральда у колбах об'ємом 250 мл (при цьому об'єм поживного середовища складав 100 мл), температура культивування – 23 – 28 °С при постійному освітленні – 2000 Лк (рис.2.2).

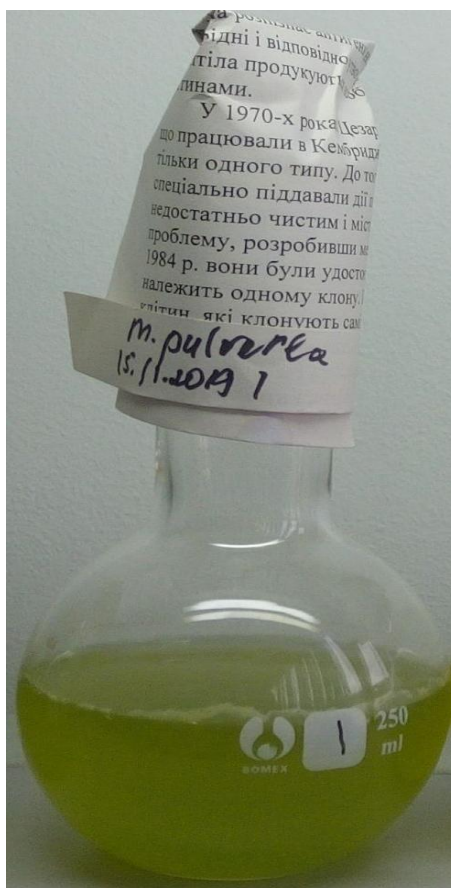


Рис.2.2 Культивування ціанобактерій *Microcystis pulverea*

Після накопичення біомаси культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea* у стерильних умовах було перенесено у 10 пробірок.

Наступним етапом був вплив на культуру ціанобактерій магнітостимулятора МС-92М. Тривалість експозиції становила 5хв, 7хв, 8хв, 10хв, 13хв, 15хв і 17хв при фіксованій відстані між джерелом впливу і ціанобактеріями.

Для виділення пігментів з ціанобактерій спочатку необхідно провести відділення культури від поживного середовища, а потім здійснювати операції для виділення пігментів.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту пігментів складається з наступних процесів: екстракції, визначення сумарного вмісту, поділу на компоненти, виділення в чистому вигляді.

Виділення пігментів (екстракція) з клітин водоростей і їх кількісне визначення мають свої особливості в залежності від об'єкта досліджень. Проведення етапів експерименту залежить від цілей і завдань досліджу.

Визначення рівня накопичення фікобіліпротеїнів у культурі *Microcystis pulverea* після дії магнітостимулятора МС-92М проводилось за рахунок вимірювання оптичної густини проб культури *Microcystis pulverea* на фотоелектроколометрі у діапазоні довжини хвиль 540 нм – 565 нм, 615 нм – 630 нм, 615 нм – 650 нм. Для встановлення ефективності дії магнітостимулятора на рівень накопичення фікобіліпротеїнів культури ціанобактерій, отримані результати порівнюють із контролем (замість омагніченої використовували дистильовану воду).

На основі отриманих даних було побудовано: графіки динаміки зміни накопичення фікобіліпротеїнів після впливу магнітостимулятора при вказаних вище експозиціях. У розділі 3 наведено отримані результати у вигляді графічних зображень.

## 2.4. Висновки до розділу

У якості предмета дослідження було обрано культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea*, що пояснюється наступними властивостями: швидке накопичення біомаси на ПС Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема, крім того, біомаса легко відділяється від культурального середовища, що слугує позитивним фактором при дослідженні.

Вплив на культуру ціанобактерій здійснювався магнітостимулятором МС-92М за тривалості експозиції 5хв, 7хв, 8хв, 10хв, 13хв, 15хв і 17хв при фіксованій відстані між джерелом впливу і ціанобактеріями.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

#### 3.1. Накопичення біомаси

Серед факторів, які істотно впливають на рівень накопичення біомаси, виділяють наступні: температура, освітленість і компоненти ПС, на якому відбувається ріст ціанобактерій.

Культивування ціанобактерій здійснювалось на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема, температура культивування 23-28 °С при рН середовища 7,2 і постійному освітленні 2000Лк.



Рис.3.1 Відібрані проби культури *Microcystis pulverea*



Нарощування біомаси здійснювалося у стерильних колбах об'ємом 250мл, в які у стерильних умовах вносилося по 125мл ПС і по 25 мл суспензії ціанобактерій *Microcystis pulverea*.

Після культивування ціанобактерій протягом 1 тижня, у стерильних умовах було здійснено відбір проби культури в 10 пробірок (рис.3.1).

Всі етапи дослідження проводились відповідно до методики експерименту (рис.3.2), яка включає в себе наступні операції, які детально описано у підрозділі 2.3:



Рис.3.2 Схема методики експерименту

Рівень накопичення біомаси ціанобактерій оцінювався за оптичною густиною у кюветах товщиною 1,07 мм на фотоелектроколориметрі за довжин хвиль 540 нм та 750 нм.

### 3.2. Вплив магнітостимулятора МС-92М на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea*

Після накопичення біомаси здійснювався вплив магнітостимулятора МС-92М на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea* на базі Національного технічного університету «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» на кафедрі електронної інженерії під керівництвом д.т.н., професора Лошицького П.П (рис.3.3):

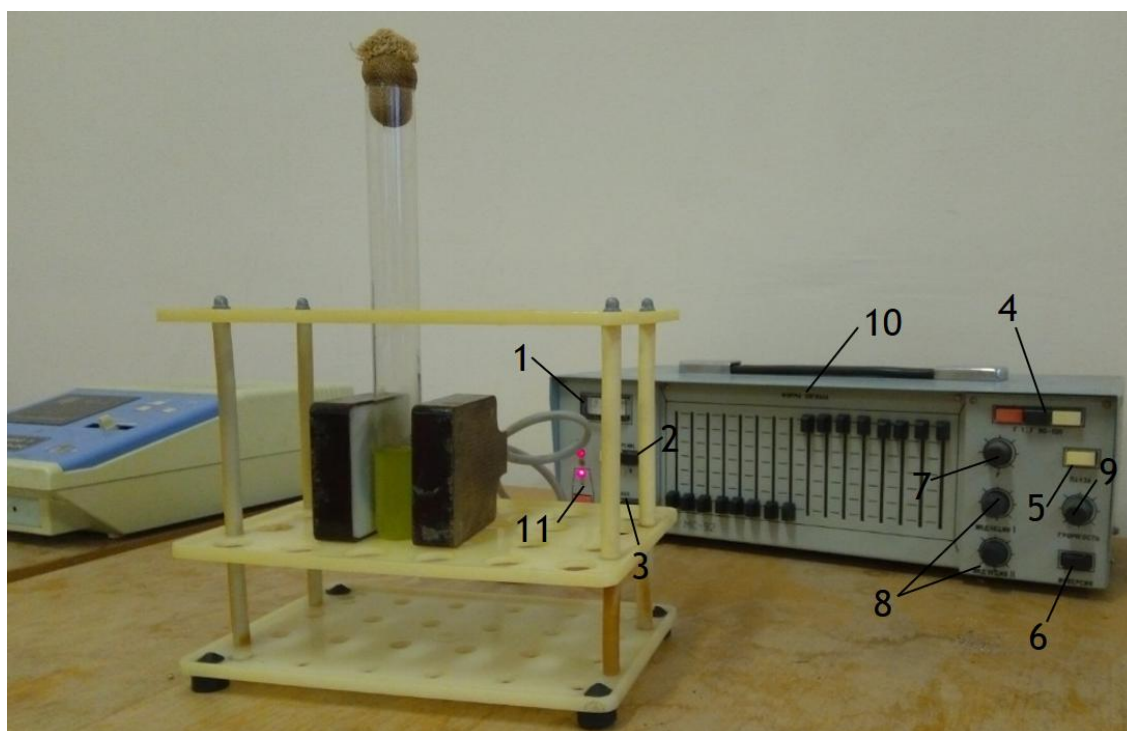


Рис. 3.3 Лабораторна установка:

1) перемикач "мережа"; 2) перемикачі "вимір F", "вимір у"; 3) перемикачі вибору каналів "канал 1", "канал 2"; 4) перемикачі режиму роботи з частоти:

"F" - фіксована частота;

"I.. .F" - регульована частота, що плаває;

"90...100" - нерегульована частота, що плаває;

- 5) перемикач "пауза"; 6) перемикач "інверсія"; 7) регулятор частоти "F";  
8) регулятори індукції магнітного поля (канали 1 і 2) "індукція 1", "індукція 2"; 9) регулятор "гучність"; 10) регулятори "форма сигналу"; 11) індикатор.

Тривалість експозиції становила 5хв, 7хв, 8хв, 10хв, 13хв, 15хв і 17хв при фіксованій відстані між джерелом впливу і ціанобактеріями.

### **3.3. Відділення пігментів після дії магнітостимулятора**

### **3.4. Обробка результатів**

### **3.5. Висновки до розділу**

## РОЗДІЛ 4

### ОХОРОНА ПРАЦІ

#### **4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори при дії омагніченої води на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea***

Відповідно до ГОСТ 12.0.003-74 небезпечні та шкідливі виробничі фактори поділяються на: фізичні, хімічні, біологічні та психофізіологічні.

При дії омагніченої води на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea* можуть виникнути такі небезпечні та шкідливі виробничі фактори [18]:

фізичні: підвищена температура повітря робочої зони, підвищений рівень вібрації, підвищений рівень шуму на робочому місці, недостатня освітленість робочої зони, підвищене значення напруги електричного поля;

хімічні: токсичні.

**Підвищена температура повітря робочої зони** виникає внаслідок експлуатації електричних приборів (електрична плитка, термостат, центрифуга, сушильна шафа, автоклав), які під час роботи нагріваються і за рахунок цього призводять до підвищення температури повітря робочої зони. Для забезпечення оптимальних умов праці, температура повітря робочої зони повинна бути 20°C.

**Підвищений рівень вібрації** є наслідком використання центрифуги з метою відділення біомаси від поживного середовища.

**Підвищений рівень шуму на робочому місці** виникає в результаті експлуатації великої кількості обладнання, що розповсюджує коливання звукової хвилі в звуковому діапазоні. Джерелом шуму у даному випадку є центрифуга та автоклав. При цьому гранично допустимий шум не повинен перевищувати 80 дБа.

**Недостатня освітленість робочої зони** може бути спричинена неправильним розміщенням робочого місця відносно вікон та світильників, а також нестачею штучного освітлення.

Загальне штучне освітлення має бути близько 0,8 м від підлоги і не нижчим, ніж 150 Лк (при використанні розжарювальних ламп) та 300 Лк (при використанні люмінесцентних ламп із світложовтим спектром випромінювання).

Джерелом електричного ураження струмом, що призводить до **підвищеного значення напруги електричного поля**, у даному випадку є електроустаткування, яке використовується під час проведення досліду (лабораторна установка МС-92М, фотоелектроколометр, центрифуга, електрична плитка, термостат, сушильна шафа, автоклав). При несправності чи неправильній експлуатації, дані прилади можуть спричинити електричне ураження струмом.

Небезпечними та шкідливими факторами, які викликають **токсичність**, у даному випадку є хімічні реактиви (розчини лугів та кислот), які мають властивість випаровуватись, поширюючись у повітрі.

#### **4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів при дії омагніченої води на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea***

##### **Профілактичні заходи запобігання підвищеної температури повітря робочої зони**

Щоб уникнути перегрівання повітря робочої зони передбачаються наступні профілактичні заходи: наявність вентиляційної системи, постійне провітрювання приміщень, оснащення обладнання спеціальними ізолюючими системами, автоматичні датчики контролю температури, наявність спецодягу працівників у належному стані відповідно до вимог конкретної робочої зони.

### **Профілактичні заходи запобігання підвищеного рівня вібрації**

Для захисту від вібрації передбачено використання віброізоляції між вібруючими приборами, а також між виробничими приміщеннями. Також пропонується використовувати взуття на товстій гумовій підшві у якості засобу захисту від вібрації.

### **Профілактичні заходи запобігання підвищеного рівня шуму на робочому місці**

Пропонується використовувати шумоізоляцію між виробничими приміщеннями. Для зниження шуму від приборів, рекомендується використовувати ущільнювачі, сальники, мастила, які сприятимуть мінімізації виникнення шуму.

### **Профілактичні заходи запобігання недостатньої освітленості робочої зони**

Робочі місця повинні розміщуватися так, щоб природне світло падало збоку, переважно зліва. Рекомендується крім природного освітлення забезпечити приміщення рівномірним штучним освітленням.

### **Профілактичні заходи запобігання підвищеного значення напруги електричного поля**

Електропроводи, електрообладнання та їх експлуатація повинні відповідати НПАОП 40.1-1.01-97. Передбачено застосування захисного заземлення, застосування електричного і механічного блокувань, знаків безпеки.

### **Профілактичні заходи запобігання токсичності**

Необхідно дотримуватись порядку і послідовностей операцій, вказаних у методиці роботи; наливати реактиви, тримаючи етикеткою до внутрішньої сторони руки; користуватися витяжкою; зливати залишки кислот, лугів, вогнебезпечних рідин та рідин з сильним запахом тільки в спеціальну тару; не змішувати невідомі хімічні речовини; не пробувати на смак хімічні речовини; при розведенні кислот, їх необхідно лити у воду, а не навпаки; у разі потреби використовувати захисний одяг (рукавички, респіратор, маску).

### 4.2.1. Розрахунок освітленості лабораторії

Освітленість робочої зони є важливим фактором, який впливає на ефективність роботи працівника, що є наслідком продуктивності і самопочуття людини. Крім того, недостатня освітленість лабораторії, у якій здійснюється накопичення біомаси, призведе до зниження рівня даного показника.

#### Розрахунок природного освітлення:

1) визначаємо сумарну площу вікон:

$$\sum F_b = F_n \cdot \lambda,$$

де  $F_n$  – площа підлоги,  $m^2$ ;

$\lambda$  – світловий коефіцієнт (приймаємо  $\lambda = 0,1$ );

$$F_n = A \cdot B,$$

де  $A$  – ширина підлоги,  $m$  ( $A = 15 m$ );

$B$  – довжина підлоги,  $m$  ( $B = 25 m$ );

$$F_n = 15 \cdot 25 = 375 (m^2);$$

$$\sum F_b = 375 \cdot 0,1 = 37,5 (m^2).$$

2) вибираємо розмір вікна і визначаємо площу за формулою:

$$f_b = a \cdot b,$$

де  $a$  – ширина вікна,  $m$  ( $a = 2 m$ );

$b$  – висота вікна,  $m$  ( $b = 2,5 m$ );

$$f_b = 2 \cdot 2,5 = 5 \text{ (м}^2\text{)}.$$

3) необхідна кількість вікон в приміщенні:

$$n = \frac{\sum F_b}{f_b};$$
$$n = \frac{37,5}{5} = 7,5,$$

приймаємо  $n = 8$ .

### **Розрахунок штучного освітлення**

1) визначаємо загальну потужність всіх світильників, необхідних для приміщення:

$$P_{заг.} = P_{пит.} \cdot F_n,$$

де  $P_{пит.}$  – питома потужність,  $Вт/м^2$  ( $P_{пит.} = 5 \text{ Вт/м}^2$ );

$$P_{заг.} = 5 \cdot 375 = 1875 \text{ (Вт)}.$$

2) вибираємо потужність теплової лампи  $P_l = 100 \text{ Вт}$ .

3) визначаємо загальну кількість ламп:

$$n_l = \frac{P_{заг.}}{P_l};$$
$$n_l = \frac{1875}{100} = 18,75.$$

4) визначаємо кількість ламп в ряду:



$$n_p = \frac{n_l}{n},$$

де  $n$  – кількість рядів ламп в приміщенні, приймаємо  $n = 5$ ;

$$n_p = \frac{18,75}{5} = 3,75,$$

приймаємо  $n_p$  за 4.

5) відстань між рядами:

$$L_p = \frac{A}{B},$$

де  $A$  – ширина підлоги, ( $A = 15$  м);

$$L_p = \frac{15}{5} = 3 \text{ (м)}.$$

6) відстань від ряду до стіни:

$$L_{pc} = \frac{L_p}{2};$$

$$L_{pc} = \frac{3}{2} = 1,5 \text{ (м)}.$$

7) відстань між лампами:

$$L_l = \frac{B}{n_p},$$

де  $B$  – довжина підлоги, ( $B = 25$  м);

$n_p$  – кількість ламп в ряду;

$$L_{л} = \frac{25}{4} = 6,25 \text{ (м)}.$$

8) відстань від лампи до бічної стінки:

$$L_{лс} = \frac{L_{л}}{2};$$

$$L_{лс} = \frac{6,25}{2} = 3,125 \text{ (м)}.$$

Отже, для забезпечення нормального виробничого освітлення лабораторії необхідно мати вісім вікон з площею кожного  $5 \text{ м}^2$  та двадцять газорозрядних ламп з потужністю кожної  $100 \text{ Вт}$  (питома потужність однієї лампи  $5 \text{ Вт/м}^2$ ).

#### **4.3. Забезпечення пожежної і вибухової безпеки при дії омагніченої води на культуру ціанобактерій *Microcystis pulverea***

Пожежна безпека повинна відповідати вимогам закону України «Кодекс цивільного захисту України», НАПБ А.01.001-2004. Електричні мережі і електроустаткування повинні відповідати вимогам НПАОП 40.1-1.01-97

Причинами виникнення пожеж і вибухів можуть бути наступні фактори:

- несправне обладнання;
- порушення технологічного процесу;
- використання приборів не за їх призначенням;
- самозаймання речовин;
- коротке замикання;
- відкритий вогонь або іскри;
- підвищена температура повітря чи електроприборів;

- дим;
- пошкодження цілісності споруд;
- корозія та пошкодження труб, неякісне зварювання та інше.

Для забезпечення пожежної та вибухової безпеки передбачено:

- справні вогнегасники;
- ящики з піском;
- пожежні щити з інвентарем;
- пожежні водопроводи;
- схеми аварійних виходів;
- автоматична система сигналізації для попередження про пожежу та вибух.

Для забезпечення пожежо- та вибухобезпеки передбачені профілактичні огляди та плановий та капітальний ремонт технологічного обладнання. Вони повинні здійснюватися в терміни, передбачені проектом, технологічним регламентом, технічними умовами [19].

У разі виявлення ознак пожежі (горіння) в лабораторії та на підприємстві оголошують пожежну тривогу, включають сигнал загальної евакуації. негайно повідомляють пожежно-рятувальний підрозділ та керівника чи відповідну компетентну посадову особу. За можливості потрібно вжити заходи щодо евакуювання людей, гасіння пожежі первинними засобами пожежогасіння та збереження матеріальних цінностей.

Потрібно здійснити відключення від енергопостачання обладнання з дотриманням техніки безпеки. Для гасіння пожежі використовують наявні засоби для гасіння пожежі (вогнегасник, простирадло, пісок та інше). Спосіб гасіння пожежі залежить як від причин, так і від характеру палаючого об'єкту. З прибуттям на пожежу пожежно-рятувальних підрозділів повинен бути забезпечений безперешкодний доступ їх на територію об'єкта, за винятком випадків, коли чинним законодавством встановлений особливий порядок допуску [19].

## РОЗДІЛ 5

### ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

#### 5.1. Шляхи утилізації біомаси ціанобактерій та отримання палива

Ціанобактеріальна біомаса містить багато цільових продуктів, цінних для різноманітних галузей сучасної біоекономіки: харчової, фармацевтичної та парфумерної промисловості. У наш час багато зусиль докладається у сфері генної інженерії задля модифікації фототрофних мікроорганізмів, особливо ціанобактерій, – продуцентів нових корисних речовин (цільових продуктів), які ними природним шляхом не синтезуються.

Актуальним напрямком сучасних досліджень також є екологічна біотехнологія та біоенергетика, які передбачають пряме використання багатотоннажної біомаси ціанобактерій та інших масових форм гідробіонтів як сировини для виробництва біопалива (біометану, біоетанолу і біодизелю) та мінералорганічного добрива. Для виробництва біоетанолу використовують метод дріжджової ферментації. У цьому випадку метою біотехнології є створення штамів ціанобактерій, синтезуючих велику кількість бактеріокрохмалю, або бактеріоглікогену, які є субстратом для спиртового бродіння. У випадку даної стратегії утилізації біомаси, ціанобактерії мають певні переваги над еукаріотами, оскільки їх клітинна стінка містить пептидоглікановий шар [24], вона здатна до лізису, на відміну від більшості водоростей, стінки яких складаються з полісахаридів та протеогліканів [25]. Крім того форма зберігання вуглеводів є дуже важливою, якщо біомаса використовується як субстрат для грибів, зокрема дріжджів під час спиртового бродіння.

Дієвим методом зниження рівня екологічної небезпеки від неконтрольованого розвитку ціанобактерій в умовах штучних водосховищ

Дніпровського каскаду може бути збір ціанобактерій і використання їх як сировини для виробництва кондиційного біогазу.

Хоча універсального методу збирання та концентрування мікродоростей не існує, для кожного конкретного виду водоростей можна розробити оптимальні економні способи і методи. Після концентрування у більшості випадків застосовують зневоднення біомаси, в результаті збільшується максимальний термін її зберігання. Для мікродоростей застосовують такі способи зневоднення як барабанне, розпилююче, сублімаційне або сонячне сушіння. Екстрагування ліпідів та вислих жирних кислот із біомаси 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. Також, встановлено, що у випадку порушення клітинної стінки водоростей за допомогою ультразвукової обробки вилучення цільового продукту збільшується з 4,8 % до 25,9 %. Із отриманої сировини біодизель виробляють за традиційною технологією – переетиризацією рослинних масел. 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.

## **5.2. Розрахунок і вибір основного технологічного обладнання**

Розрахунок і вибір основного технологічного обладнання для прийнятої в проекті технології та відповідно до технологічної схеми, проводять згідно із заданою потужністю виробництва, за даними матеріального балансу та норм технологічного проектування.

Дані для розрахунку:

- обсяг виробництва –  $Q_1=0,2$  т/добу
- кількість робочих днів у році –  $t=365$  днів

- вихід продукту з  $1\text{ м}^3$  культуральної рідини –  $q=0,0014\text{ т/ м}^3$ .

Для розрахунку обладнання приймають: коефіцієнт заповнення збірників та реакторів підготовки поживного середовища – 0,7; коефіцієнт наповнення збірників фільтратів та концентратів – 0,8.

### Виробничі ферментери

Обсяг виробництва продукту за добу, т/добу:

$$Q_1 = Q / t$$

$$Q_1 = 0,2 \text{ т/добу,}$$

де  $Q$  – обсяг виробництва готової продукції за рік:  $Q=0,2 \cdot 365=73$  т/рік

Кількість культуральної рідини за добу, що необхідна для забезпечення річного обсягу виробництва:

$$Q_2 = Q_1 / q = 0,2 / 0,0014 = 142 \text{ м}^3$$

Де  $Q_1$  – обсяг виробництва за добу;  $q$  – вихід препарату з  $1\text{ м}^3$  культуральної рідини.

Для розрахованої кількості культуральної рідини за добу вибирають ферментер, об'єм якого при коефіцієнті заповнення 0,5 близький до об'єму  $Q_2$ . Тобто вибираємо ферментер об'ємом  $160 \text{ м}^3$ .

Кількість культуральної рідини з однієї ферментації з врахуванням втрат під час ферментації (10%):

$$Q_3 = V \cdot 0,5 \cdot 0,9 = 160 \cdot 0,5 \cdot 0,9 = 72 \text{ м}^3.$$

де  $Q_3$  - кількість культуральної рідини з однієї ферментації;  $V$  – геометричний об'єм ферментера,  $\text{м}^3$ ; 0,5 – коефіцієнт заповнення ферментера; 0,9 – коефіцієнт, що враховує вихід культуральної рідини з урахуванням 10% втрат.

Кількість ферментацій за добу:

$$n = Q_2 / Q_3 = 142 / 72 = 1,97 = 2$$

де  $Q_2$  – необхідна кількість культуральної рідини за добу;  $Q_3$  - кількість культуральної рідини з однієї ферментації.

Кількість культуральної рідини в рік:

$$Q_4 = Q / q = 73 / 0,0014 = 52142,9 \text{ м}^3$$

Де Q – обсяг виробництва готової продукції, т/рік; q – вихід препарату з 1 м<sup>3</sup> культуральної рідини, т/ м<sup>3</sup>.

Тривалість циклу (обороту) одного ферментера (t<sub>1</sub>) складається з блоків стандартних робіт підготовчого характеру та основного виробництва:

- тривалість виробничої ферментації – 50 годин;
- злив культуральної рідини – 3 години;
- миття ферментеру – 3 години;
- перевірка на герметичність – 1,5 години;
- стерилізація ферментера – 2 години;
- заповнення ферментера поживним середовищем – 2 години.

Кількість робочих годин за рік, год:

$$t_2 = t \cdot 24 = 365 \cdot 24 = 8760 \text{ год}$$

Необхідна кількість ферментерів:

$$N = (Q_4 \cdot t_1) / (Q_3 \cdot t_2) = (52142,9 \cdot 182,5) / (72 \cdot 8760) = 15$$

### **Посівні апарати**

Посівний матеріал із одного посівного апарату надходить у декілька виробничих ферментерів. Посівний цикл роботи одного посівного апарату:

- миття апарату – 40 хвилин;
- перевірка на герметичність – 50 хвилин;
- стерилізація пустого апарату – 1 година;
- приготування поживного середовища у посівному апараті – 2 години;
- стерилізація поживного середовища у посівному апараті – 0,5 годин;
- тривалість вирощування посівного матеріалу – 16 годин;
- внесення посівного матеріалу у виробничий ферментер – 1 година.

Кількість посівного матеріалу на завантаження одного виробничого ферментера:

$$Q_5 = V \cdot 0,5 \cdot c = 160 \cdot 0,5 \cdot 0,05 = 4 \text{ м}^3$$

де  $V$  – об'єм ферментера,  $\text{м}^3$ ; 0,5- коефіцієнт заповнення;  $c$ - кількість посівного матеріалу у %.

Повний об'єм посівного апарату з коефіцієнтом заповнення 0,6:

$$Q_6 = Q_5 / 0,6 = 4 / 0,6 = 6,7 \text{ м}^3$$

Кількість посівних апаратів:

$$n_1 = (n \cdot \tau_3) / 24 = (1 \cdot 24,5) / 24 = 1$$

де  $n$  – кількість ферментацій за добу;  $\tau_3$  – повний цикл роботи посівного апарату.

### **Обладнання для приготування поживного середовища для виробничих ферментерів**

Для приготування поживного середовища для виробничих ферментерів передбачена розподільна стерилізація із застосуванням установки безперервної стерилізації вуглеводовмісних компонентів. Для розчинення використовують окремі місткості і стерилізують водні суміші цих компонентів послідовно в установці безперервної стерилізації.

Об'єм поживного середовища= об'єму ферментера:

$$V_1 = V \cdot 0,5 = 160 \cdot 0,5 = 80 \text{ м}^3$$

де  $V$  – об'єм ферментера; 0,5 – коефіцієнт заповнення.

Під час стерилізації живильного середовища в установці безперервної стерилізації відбувається його розбавлення конденсатом, у зв'язку з цим об'єм води, що використовується для приготування середовища має бути зменшений на 20%:

$$V_2 = V_1 - (V_1 \cdot 0,2) = 80 - (80 \cdot 0,2) = 64 \text{ м}^3$$

де 0,2 – коефіцієнт, що враховує розбавлення середовища конденсатом.



Об'єм води для приготування першої партії середовища становить 65 – 70% від загального об'єму води:

$$V_3 = V_2 \cdot 0,7 = 64 \cdot 0,7 = 44,8 \text{ м}^3$$

а для приготування другої партії середовища об'єм води:

$$V_4 = V_2 \cdot 0,3 = 64 \cdot 0,3 = 19,2 \text{ м}^3$$

Повний об'єм реактора для першої партії середовища,  $\text{м}^3$ , з коефіцієнтом заповнення 0,7:

$$V_5 = V_3 / 0,7 = 44,8 / 0,7 = 64 \text{ м}^3$$

а для другої партії середовища:

$$V_6 = V_4 / 0,7 = 19,2 / 0,7 = 27,4 \text{ м}^3$$

Обираємо реактори з мішалкою  $V=64 \text{ м}^3$  та  $V=27,4 \text{ м}^3$  і встановлюємо 1 запасний.

### **Стерилізація поживного середовища в установці безперервної стерилізації**

Кількість середовища, що надходить на стерилізацію за добу:

$$Q_8 = V_2 = 64 \text{ м}^3$$

Час стерилізації середовища не має перевищувати 3 год. Відповідно до цього продуктивність установки безперервної стерилізації:

$$Q_1 = Q_8 / 3 = 64 / 3 = 21,3 \text{ м}^3/\text{год}$$

За розрахованою продуктивністю вибираємо установку безперервної стерилізації.

Загальний час зайнятості установки безперервної стерилізації складається з часу на стерилізацію середовища і часу підготовки установки безперервної стерилізації до роботи.

Час підготовки установки безперервної стерилізації складається з ряду допоміжних робіт:

- миття апаратури – 0,5 годин;
- ревізія арматури – 0,5 годин;

- перевірка на герметичність – 1 година;
- стерилізація установки безперервної стерилізації – 1 година.

Встановлюємо установку безперервної стерилізації УБС – 20 та одну запасну.

### **Збірники культуральної рідини**

Необхідний об'єм збірників при коефіцієнті заповнення - 0,8.

$$Q_9 = Q_2 / 0,8 = 142 / 0,8 = 177,5 \text{ м}^3,$$

де  $Q_2$  – кількість культуральної рідини за добу,  $\text{м}^3$ ; 0,8 - коефіцієнт заповнення.

Вибираємо збірник з необхідним корисним об'ємом і розраховуємо їх кількість.

Корисний об'єм збірника ( $V_n$ ):

$$V_n = V_{\text{повне}} \times 0,8 = 15 \times 0,8 = 12 \text{ м}^3$$

де  $V_{\text{повне}}$  - повний об'єм збірника; 0,8 - коефіцієнт заповнення.

Кількість збірників:

$$n_2 = Q_9 / V_n = 177,5 / 12 = 14,7$$

де  $Q_9$  – кількість культуральної рідини;  $V_n$  - корисний об'єм збірника.

Приймаємо 1 збірник і 1 запасний.

### **Відокремлення біомаси**

На відокремлення біомаси поступає  $Q_2$ ,  $\text{м}^3$ /добу.

Фільтрувальне обладнання вибираємо за поверхнею фільтрації і за питомою швидкістю фільтрації.

$$S = Q_2 / g_1 \times t_6 = 6,17 / 2 \times 0,05 \times 2 \times 20 = 1,5 \text{ м}^2,$$

де  $S$  - необхідна поверхня фільтрації,  $\text{м}^2$ ;

$Q_2$  - кількість культуральної рідини за добу,  $\text{м}^3$ ;

$g_1$  - питома швидкість фільтрації;

$\tau_6$  - час роботи фільтра - 20 годин (для даного конкретного випадку).

Приймаємо центрифугу з поверхнею фільтрації  $S=5 \text{ м}^2$  і одну запасну.

Отже, біомаса ціанобактерій, виділена від культурального середовища, може бути використана для виробництва малотоннажних цінних продуктів із унікальними властивостями. Багатотонажну біомасу природного походження можна використовувати для виробництва палива (біометану, біоетанолу та біодизелю).

## ВИСНОВКИ

1. Ціанобактерії *Microcystis pulverea* належать до грамнегативних бактерій, особливістю яких є здатність до фотосинтезу, це найбільш складно організовані і диференційовані прокаріоти. Клітина ціанобактерій укрита оболонкою, навколо якої є слизова капсула, що виконує захисну та рухову функції. Цитоплазма має два шари: фотосинтезуючий і спадковий. Наявна вакуоля із запасними речовинами й так звані “газові вакуолі”, заповнені азотом. Розмножуються поділом (одноклітинні форми), спорами, фрагментами ниток (нитчасті форми). Вони поширені в морях і прісних водоймах, ґрунтовому покриві, швидко адаптуються до геохімічних і кліматичних змін, в тому числі до антропогенних модифікацій водного середовища.
2. Фікобіліпротеїни є основними компонентами ціанобактеріальної клітини, які можуть складати до 40% клітинного білка. Ціанобактерії, володіючи таким набором пігментів, здатні найбільш повно, порівняно з іншими організмами, використовувати видиму частину спектру сонячного світла. Специфічні спектральні властивості фікобіліпротеїнів дозволяють використовувати їх в імунологічних дослідженнях як флуоресцентні мітки для сортування клітин. Крім того, через характерний, яскраво виражений пік абсорбції у видимій частині спектра, вони є зручними маркерами в таких методах дослідження, як гель електрофорез, ізоелектричне фокусування, високоефективна гель хроматографія. Фікоціанін має потенціал використання і в якості терапевтичного засобу у лікуванні захворювань, викликаних стресом. Він здатен зв'язувати вільні радикали. Ґрунтуючись на здатності С-фікоціаніна запобігати пошкодженню нейронів головного мозку, його пропонують використовувати для лікування Альцгеймера і Паркінсона. Фікоціанін володіє також антивірусною активністю.

## СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бактерії: будова та форми клітин, способи живлення. [Електронний ресур]. – Режим доступу. <http://ru.osvita.ua/vnz/reports/biolog/27243/>
2. Ціанобактерії – особливості, структура і функції. [Електронний ресур]. – Режим доступу. <https://collectedpapers.com.ua/ru/biology-of-our-day/tsianobakteriyi-osoblivosti-struktura-ta-funktsiyi>
3. Ціанобактерії. [Електронний ресур]. – Режим доступу. <https://school.home-task.com/cianobakteriyi-sino-zeleni-vodorosti/>
4. Гусев М. В. Пигменты синезеленых водорослей / Гусев М. В. // Биология синезеленых водорослей. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1969. – С. 88–109.
5. Стадничук И. Н. Фикобилипротеиды синезеленых, красных и криптофитовых водорослей / Стадничук И. Н., Гусев М. В. // Биохимия. – 1979. – 44, № 4. – С. 579-593.
6. Андреюк Е. И. Цианобактерии / Андреюк Е. И., Коптева Ж. П., Занина В. В. – К.: Наук. думка, 1990. – 200 с.
7. Гусев М. В. Цианобактерии (физиология и метаболизм) / Гусев М. В., Никитина К. А. – М.: Наука, 1979. – 228 с.
8. Glaser A. N. Chromophore content of blue-green phycobiliproteins / Glaser A. N., Fang S. // J. Biol. Chem. – 1973. – 248, N 2. – P. 659–662.
9. Стадничук И. Н. Фикобилипротеины / Стадничук И. Н. – М.: ВИНТИ, 1990. – 196 с.
10. Вимер И. Фикобилипротеины из синезеленых водоростей / Вимер И., Вайнтрауб И. А. // Изв. АН МССР. – 1987. – № 4. – С. 20–23.
11. Пат. 2320195 Российская Федерация, МПК А23J3/20, А23J3/32, С12N1/12, С09В061/00. Способ получения белкового препарата из цианобактерий; заявитель и патентообладатель / Мазо В. К.,

Гмошинский И. В. – № 2006118740/13; заявл. 31.05.2006; опубл. 27.03.2008, Бюл. №9.

12. Стадничук И. Н. Фикобилипротеины / Стадничук И. Н. – М.: ВИНТИ, 1990. – 196 с.
13. Курс лекцій з дисципліни «Екологічний моніторинг». [Електронний ресурс]. – Режим доступу. <http://ena.lp.edu.ua:8080/bitstream/ntb/23198/1/31-Pohrebennyk-164-171.pdf>
14. Белова Т. П. Обоснование использования синезеленых водорослей для выделения хлорофилла и фикобилипротеинов как пищевых красителей и биологически активных веществ / Белова Т. П., Ефимова М. В. // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 11. – С. 77–80.
15. Стадничук И. Н. Фикобилипротеиды синезеленых, красных и криптофитовых водорослей / Стадничук И. Н., Гусев М. В. // Биохимия. – 1979. – 44, № 4. – С. 579-593.
16. Paerl H.W. Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls / H.W. Paerl, T.G. Otten // Environ. Microbiol. 2013. V. 65. P. 995-1010.
17. Нековаль І. В. Фармакологія: підручник (ВНЗ І–ІІІ р. а.) / І. В. Нековаль, Т. В. Казанюк., 2016. – 552 с.
18. ГОСТ 12.0.003-74 ССБТ. «Опасные и вредные производственные факторы. Классификация»: Государственный стандарт. – М.: Госстандарт СССР. – 1974.– 5с.
19. Основи охорони праці: підручник / [М. С. Одарченко, А. М. Одарченко, В. І. Степанов та ін.]. – Харків: Стиль-Издат, 2017. – 341с.