

Міністерство освіти і науки України  
Національний технічний університет  
«Дніпровська політехніка»

Навчально-науковий інститут природокористування

Кафедра екології та технологій захисту навколишнього середовища

**ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА**  
**кваліфікаційної роботи ступеня магістр**

студентки Шило Дарини Олегівни  
(ПІБ)

академічної групи 101м – 21 – 1ПІ  
(шифр)

спеціальності 101 «Екологія»  
(код і назва спеціальності)

за освітньо-професійною програмою – «Екологія»

на тему Підвищення ефективності очищення шахтних вод  
вугледобувного підприємства біотехнологічними методами  
(назва за наказом ректора)

| Керівники              | Прізвище, ініціали    | Оцінка | Підпис |
|------------------------|-----------------------|--------|--------|
| Кваліфікаційної роботи | доц. Клімкіна І.І.    |        |        |
| <b>розділів:</b>       |                       |        |        |
| Теоретичного           | доц. Клімкіна І.І.    |        |        |
| Дослідницького         | доц. Клімкіна І.І.    |        |        |
| Технологічний          | доц. Клімкіна І.І.    |        |        |
| Охорона праці          | проф. Чеберячко Ю.І.  |        |        |
| Економічного           | проф. Павличенко А.В. |        |        |
| Рецензент              | проф. Загриценко А.М. |        |        |
| Нормоконтролер         | ас. Грунтова В.Ю.     |        |        |

Дніпро  
2022

**Міністерство освіти і науки України**  
**Національний технічний університет**  
**«Дніпровська політехніка»**

ЗАТВЕРДЖЕНО:  
 завідувачка кафедри ЕТЗНС  
Борисовська О.О.  
 « 01 » жовтня 2022 року

**ЗАВДАННЯ**

**на кваліфікаційну роботу ступеня магістра**  
**студентці Шило Д. О. академічної групи 101М-21-1**  
 (прізвище та ініціали) (шифр)  
**спеціальності 101 «Екологія»**  
**за освітньо-професійною програмою – Екологія**  
**на тему «Підвищення ефективності очищення шахтних вод вугледобувного підприємства біотехнологічними методами», затверджену наказом ректора НТУ «Дніпровська політехніка» наказ № 1187-с від 28.10.2022**

| Розділ        | Зміст  | Термін виконання         |
|---------------|--|--------------------------|
| Теоретичний   | Дослідити екологічну небезпеку шахтних вод та природних водойм. Проаналізувати основні методи видалення важких металів з водного середовища. За аналізом літературних джерел визначити властивості <i>Chlorella vulgaris</i> та її здатності до сорбції важких металів | 20.11.2022<br>30.11.2022 |
| Дослідницький | Дослідити можливості використання <i>Chlorella vulgaris</i> для очистки стічних шахтних вод від важких металів.  | 01.12.2022<br>08.12.2022 |
| Технологічний | Розробити пропозиції щодо удосконалення системи очистки стічних шахтних вод шляхом використання <i>Chlorella vulgaris</i>  | 01.12.2022<br>08.12.2022 |
| Охорона праці | Проаналізувати заходи з безпечної роботи на біоінженерних спорудах.  | 01.12.2022<br>10.12.2022 |
| Економічний   | Розрахувати капітальні і експлуатаційні витрати щодо наведеної методики очистки стічних шахтних вод  | 08.12.2022<br>11.12.2022 |

Завдання видано \_\_\_\_\_ Клімкіна І. І.  
 (підпис керівника) (прізвище, ініціали)

Дата видачі 01.10.22

Дата подання до екзаменаційної комісії \_\_\_\_\_

Прийнято до виконання \_\_\_\_\_ Шило Д. О.  
 (підпис студента) (прізвище, ініціали)

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 78 с., 18 рис., 14 таблиць, 63 літературних джерела, 4 додатка.

У вступі аналізується актуальність необхідності зниження вмісту важких металів у стічних шахтних водах, наведені об'єкт, мета та задачі роботи.

Теоретичний розділ містить аналіз негативного впливу шахтних вод з високим вмістом важких металів на поверхневі природні води, існуючих методів зниження концентрації важких металів, а також визначення можливості використання *Chlorella vulgaris* як об'єкту екологічних біотехнологій.

У технологічному розділі наведено результати експериментальних даних стосовно застосування *Chlorella vulgaris* для обґрунтування зниження вмісту важких металів у стічних шахтних водах.

У розділі «Охорона праці» обґрунтовані заходи щодо безпечної роботи на біоінженерних спорудах.

В «Економічному розділі» розраховано економічний ефект від впровадження запропонованого способу зниження концентрації важких металів.

У висновках наведені основні результати кваліфікаційної роботи.

БІОІНЖЕНЕРНІ СПОРУДИ, *CHLORELLA VULGARIS*,  
БІОАКУМУЛЯЦІЙНИЙ ФАКТОР, ШАХТНІ ВОДИ, ВАЖКІ МЕТАЛИ,  
БІОПЛАТО, ЗАБРУДНЕННЯ ГІДРОСФЕРИ.

## ЗМІСТ

|  |    |
|--|----|
| РЕФЕРАТ.....   | 3  |
| ВСТУП.....   | 6  |
| РОЗДІЛ 1 ЕКОЛОГІЧНІ НАСЛІДКИ НАДХОДЖЕННЯ ВАЖКИХ<br>МЕТАЛІВ ІЗ ВОДАМИ ВУГЛЕДОБУВНИХ ПІДПРИЄМСТВ ДО<br>ПРИРОДНИХ ВОДОЙМ ТА ПОШУК МЕТОДІВ ЇХ ДООЧИЩЕННЯ ..... | 9  |
| 1.1 Характеристика шахтних вод та їх вплив на стан водних екосистем .....  | 9  |
| 1.1.1 Загальна характеристика шахтних вод.....   | 9  |
| 1.1.2 Вплив важких металів на водні екосистеми .....   | 11 |
| 1.2 Аналіз сучасних методів видалення важких металів<br>з водного середовища .....   | 14 |
| 1.2.1 Фізико-хімічні, електрохімічні та баромембранні методи очищення<br>стічних вод від важких металів .....  | 15 |
| 1.2.2 Біологічні методи очищення стічних вод від важких металів .....  | 17 |
| РОЗДІЛ 2 ХАРАКТЕРИСТИКА CHLORELLA VULGARIS ЯК ОБ'ЄКТА<br>ЕКОЛОГІЧНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ.....  | 21 |
| 2.1 Будова, розмноження та хімічний склад хлорели .....  | 21 |
| 2.2 Фактори, що впливають на життєдіяльність хлорели .....   | 25 |
| 2.3 Використання хлорели у господарстві.....   | 27 |
| 2.4 Застосування хлорели для біотехнологій очистки стічних вод .....   | 30 |
| РОЗДІЛ 3 ОБГРУНТУВАННЯ ЗАХОДІВ ДЛЯ ДООЧИЩЕННЯ<br>ПОВЕРХНЕВИХ СТІЧНИХ ВОД ВІД ВАЖКИХ МЕТАЛІВ.....   | 33 |
| 3.1 Культивування <i>Chlorella vulgaris</i> .....  | 33 |
| 3.1.1 Криві росту мікроорганізмів.....   | 36 |
| 3.1.2 Метод підрахунку біомаси із застосуванням камери Горяєва .....   | 37 |
| 3.2 Результати досліджень .....  | 39 |
| 3.2.1 Дослідження швидкості росту клітин <i>Chlorella vulgaris</i> у середовищі з<br>додатковим навантаженням важкими металами .....                       | 39 |
| 3.2.2 Дослідження резистентності хлорели до впливу важких металів .....  | 43 |
| 3.3 Обґрунтування технології.....  | 45 |

## РОЗДІЛ 4 ОХОРОНА ПРАЦІ ПРИ РОБОТІ НА БІОІНЖЕНЕРНИХ

|  |    |
|--|----|
| СПОРУДАХ .....   | 47 |
| 4.1 Аналіз небезпечних та шкідливих виробничих чинників.....   | 47 |
| 4.2 Правила безпеки при роботі на біоінженерних спорудах.....  | 48 |
| 4.3 Розрахунок потенційно-небезпечного фактору.....  | 49 |
| 4.4 Пожежна безпека.....   | 52 |
| 4.5 Безпека в надзвичайних ситуаціях .....   | 53 |
| РОЗДІЛ 5 ЕКОНОМІЧНИЙ РОЗДІЛ.....   | 54 |
| 5.1 Розрахунок капітальних витрат .....  | 54 |
| 5.2 Розрахунок експлуатаційних витрат .....  | 55 |
| 5.3 Розрахунок економії екологічного податку .....   | 57 |
| 5.4 Розрахунок економічного ефекту.....  | 59 |
| ВИСНОВКИ .....   | 60 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....   | 62 |
| Додаток А Копії публікацій.....  | 68 |
| Додаток Б Відгук керівника кваліфікаційної роботи.....   | 73 |
| Додаток В Зовнішня рецензія.....   | 74 |
| Додаток Д Відгуки керівників розділів .....  | 75 |
| Додаток З Результати перевірки тексту кваліфікаційної роботи магістра на<br>присутність запозичень (плагіату)..... | 78 |

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Забруднення навколишнього природного середовища важкими металами, на сьогодні, одна з найгостріших проблем. Особлива небезпека забруднення середовища важкими металами полягає у їх високій токсичності та, на відміну від органічних токсикантів, вони не розкладаються, а накопичуються у живих організмах. Деякі з важких металів є життєво необхідними елементами, тоді як кадмій та свинець чинять токсичну дію на живі організми навіть у мікроскопічних кількостях.

Значна частка важких металів потрапляє до навколишнього середовища із шахтними водами вугледобувних підприємств. Скид шахтних вод з підвищеним вмістом важких металів, призводить до збільшення концентрації важких металів призводить до серйозних змін у щільності, різноманітності, групової структури видового складу фауни та флори водойм. Також регіональне забруднення малих та середніх річок важкими металами призводить до погіршення якості води у великих річках, що створює серйозну небезпеку для здоров'я населення [1].

Зазвичай очистка стічних вод від важких металів відбувається фізико-хімічними, електрохімічними та баромембранними методами очищення. Ці методи мають високий рівень ефективності, але і ряд недоліків пов'язаних із великими енерговитратами, складністю обслуговування апаратури, використання хімічних реагентів, утворенням шламів, високою вартістю та потребою у попередньому очищенні води [2].

На сьогодні поряд з традиційними методами все більшого поширення набуває використання біотехнологічних методів, основними позитивними рисами використання яких є мінімальні витрати на обладнання та електроенергію, легкість в експлуатації, відсутність відходів та ефективність очистки [3].

**Мета роботи та завдання кваліфікаційної роботи.** Метою роботи було дослідження можливості використання мікроводоростей *Chlorella vulgaris* для обґрунтування біотехнології зниження вмісту важких металів у

шахтних стічних водах з метою мінімізації їх негативного впливу на стан природних вод.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені такі задачі:

1. Проаналізувати літературні дані щодо впливу вугледобувної промисловості на стан поверхневих природних вод.
2. Визначити переваги та недоліки використання традиційних методів зниження вмісту важких металів.
3. Дослідити вплив важких металів, у концентрації на рівні ГДК, на життєздатність *Chlorella vulgaris*.
4. Обґрунтувати пропозиції щодо удосконалення системи очистки шахтних стічних вод шляхом використання *Chlorella vulgaris*.
5. Проаналізувати заходи з безпечної роботи з біооб'єктами в навчально-науковій лабораторії.
6. Розрахувати капітальні і експлуатаційні витрати щодо наведеної методики очистки стічних шахтних вод.

### **Апробація результатів магістерської роботи.**

Апробація роботи проводилась:

1. На секції «Сучасні питання екології та захисту довкілля» Х міжнародної науково-технічної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Молодь: наука та інновації». За результатами доповіді надруковано тези:

Шило Д.О., Клімкіна І.І. Дослідження можливості використання *Chlorella Vulgaris* для очистки стічних вод від важких металів // Молодь: наука та інновації-2022: Матеріали Х міжнародної науково-технічної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених: НТУ «ДП», 2022.

2. На секції «Сучасні питання екології та захисту довкілля» ІХ міжнародної науково-технічної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Молодь: наука та інновації». За результатами доповіді надруковано тези:

Шило Д.О., Клімкіна І.І. Дослідження резистентності *Chlorella Vulgaris*

до впливу важких металів // Молодь: наука та інновації-2022: Матеріали ІХ міжнародної науково-технічної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених: НТУ «ДП», 2021.

3. Опубліковано статтю у академічному науково-практичному виданні «Екологічні науки»:

Шило Д.О., Клімкіна І.І. Дослідження впливу важких металів на фізіологічну активність *Chlorella Vulgaris* та її здатність до біоаккумуляції. *Екологічні науки*. 2022. №45. (у друці)



# **РОЗДІЛ 1 ЕКОЛОГІЧНІ НАСЛІДКИ НАДХОДЖЕННЯ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ІЗ ВОДАМИ ВУГЛЕДОБУВНИХ ПІДПРИЄМСТВ ДО ПРИРОДНИХ ВОДОЙМ ІА ПОШУК МЕТОДІВ ЇХ ДООЧИЩЕННЯ**

## **1.1 Характеристика шахтних вод та їх вплив на стан водних екосистем**

Вугледобувна промисловість є однією з найпотужніших за ступенем негативного впливу на навколишнє середовище в Україні. Надмірна експлуатація природних ресурсів та порушення низки екологічних норм зумовлює значні зміни в навколишньому середовищі та може спричинити зростаючу водогосподарську-екологічну кризу [4].

### **1.1.1 Загальна характеристика шахтних вод**

Вугледобувна промисловість має широкий спектр виробництв, що своєю діяльністю впливають на стан поверхневих стічних вод. Ця галузь об'єднує гірничодобувні підприємства, шахти, резерви, збагачувальні та брикетні фабрики, машинобудівні і ремонтні заводи та діяльність кожного з цих підприємств впливає на обсяг, склад і властивості стічних вод. Також до чинників, що впливають на характеристики шахтних вод можна віднести: склад і властивості підземних вод, гірських порід, вугільних пластів, гірничо-геологічні і гірничотехнічні умови, та допоміжні чинники – клімат, рельєф місцевості, рослинність. Води вугледобувних виробництв відрізняються різноманітним хімічним складом, є непридатними для використання у господарсько-побутових цілях та можуть бути використанні в технічних цілях лише з попередньою обробкою [5].

Приблизно 500 млн м<sup>3</sup> шахтних вод відкачується кожен рік, близько 80-85% потрапляє у природні водойми. З шахтною водою до земної поверхні потрапило близько 100 т різних солей та сульфатів, в тому числі токсичних та потенційно токсичних важких металів [6]. Важкі метали представляють

особливу небезпеку, бо протягом тривалого впливу на організм можуть призводити до багатьох хронічних захворювань.

Зазвичай шахтні води мають високу мінералізацію. Із загального обсягу шахтних вод 52 % мають мінералізацію понад 1 г/л, 10 % вод є кислими; в тому числі з мінералізацією понад 3 г/л – 2,6 % і з мінералізацією понад 5 г/л – 6,0 % [6, 7]. Ступінь кислотності шахтних вод обумовлюється присутністю вільної сірчаної кислоти і характеризується концентрацією водневих іонів (рН). Такі води найбільш характерні для шахт східного Донбасу. Шахтні води Західного Донбасу характеризуються високою мінералізацією (на окремих шахтах мінералізація досягає 20 г/л), а також високим вмістом бактеріальних забруднювачів, токсичних елементів, зокрема важких металів (кадмій, свинець, нікель, цинк та інші), концентрації яких у багато разів можуть перевищувати ГДК [8].

Наявність мікроелементів в шахтних водах пов'язано з їх кількістю в підземних водах вугленосних відкладень, а також з міграцією елементів з гірських порід в шахтні води.

У шахтних водах східного Донбасу виявлено близько 30 хімічних елементів, що є відповідним до мікроелементів в підземних водах вугленосних відкладень, вище допустимих концентрацій були концентрації стронцію, нікелю, міді, титану, цинку, барію і заліза. На гідрохімічний режим поверхневих вод центрального та західного Донбасу впливають скиди шахтних вод та відвальні шахтні породи. Аналіз літературних джерел показав, що такі елементи як кадмій та свинець перевищують допустимі показники у шахтних водах західного Донбасу, також виявлено високі концентрації цих речовин у річці Волча (Cd – 0,0163 мкг/л; Pb – 0,0516 мкг/л). [9,10].

Таблиця 1.1 показує, що вміст важких металів в шахтних водах окремих вугледобувних підприємств перевищує гранично-допустимі концентрації (ГДК).

Таблиця 1.1 – Вміст важких металів в шахтних водах, мкг/л [5,6,7]

| Елементи | Виробниче об'єднання |              |                  |
|----------|----------------------|--------------|------------------|
|          | Донецьквугілля       | Артемвугілля | Павлоградвугілля |
| Cu       | 0,073                | 0,039        | 0,0023           |
| Co       | 0,019                | 0,02         | 0,02             |
| Ni       | 0,024                | 0,025        | 0,005            |
| Zn       | -                    | -            | 0,005            |
| Cr       | 0,004                | 0,009        | 0,001            |

Таким чином, шахтні води вугледобувних підприємств мають великий негативний вплив на стан навколишнього природного середовища та, відповідно, викликає погіршення здоров'я населення. Тому є актуальним питання розробки методів доочищення та відновлення водних екосистем, що потерпають від скидів шахтних вод підприємств гірничо-видобувної галузі.

### 1.1.2 Вплив важких металів на водні екосистеми

Зазвичай вміст важких металів в поверхневих водах становить менше ніж 1 мг/л [2]. Вагомий внесок у забруднення водних екосистем важкими метали здійснюють скиди шахтних вод вугледобувних підприємств. Характерною рисою стічних вод гірничо-видобувних підприємств є настільки високий вміст важких металів, що він є практично згубним для водних рослин.

Через збільшення вмісту важких металів у водному середовищі відбувається ряд фізіологічних змін в організмі гідробіонтів. Так, від збільшення концентрації металів у середовищі інтенсифікується синтез специфічного протеїну – металотіонеїну, який зв'язує надлишок металів у організмі та виводить їх з активного метаболізму. Для підтримання нормальної життєдіяльності гідробіонтів потрібна бути узгоджена робота всіх функціональних систем та біохімічних процесів, відхилення від норми однієї з них, викликане токсикантом, може призводити до порушення

життєдіяльності цілого організму. Це може призвести до зими видового різноманіття водойм, і домінування видів, що є стійкими до впливів важких металів та, як наслідок, зміни структури популяцій та екосистеми в цілому [1].

Вплив важких металів на живі організми залежить від рівня токсичності елементів, виду, фізіологічного стану організму та концентрацій металів у водному середовищі. Деякі з важких металів є життєво необхідними елементами, тоді як такі елементи як кадмій та свинець чинять токсичну дію на живі організми. Головна небезпека забруднення навколишнього середовища важкими металами пов'язана із тим, що вони, на відміну від органічних токсикантів, не розкладаються, один раз включившись в біогеохімічні цикли, вони можуть зберігати свою біологічну активність необмежений час.

Важкі метали здатні спричиняти канцерогенну та мутагенну дію на організм, а також токсичний вплив на шлунково-кишковий тракт, серцево-судинну, ендокринну, нервову, репродуктивну системи, збільшення ризику безпліддя, послаблення імунної системи та загострення хронічних захворювань. Кожен важкий метал має свої особливості впливу на організм.

Результати вимірювань, що були проведені у 2021 році, на вміст металів, в басейнах річок Казенний Торець, Кривий Торець, Бахмутка, які потерпають від скидів шахтних вод вугледобувних підприємств Донбасу, свідчили про підвищений вміст кобальту та хрому, які дорівнюють 0,3 та 0,7 мг/л відповідно [11].

Результат дослідження вмісту важких металів у річці Волча, що був проведений у 2020 році, показав що концентрація кадмію становить 0,016 мкг/л та концентрація свинцю 0,062 мкг/л, що перевищує ГДК. На стан вод цієї річки впливає діяльність вугледобувних підприємств Західного Донбасу [9].

Свинець, кадмій та ртуть є найнебезпечнішими металами, за їх впливом на організм людини. Період напіввиведення кадмію може тривати від 10 до

30 років [12].

Кадмій є одним з найбільш токсичних металів. Цей елемент здатен накопичуватися у нирках, тривалий вплив кадмію на організм призводить до викривлення, деформації, крихкості та ломкості кісток. Забруднення водою сполуками кадмію призводить до його накопичення в організмах гідробіонтів у великих кількостях, та за їх масового вимирання вони виступають джерелами вторинного забруднення. Високі концентрації кадмію сповільнюють здатність водою до самоочищення. У підвищених концентраціях є високотоксичним, особливо у поєднанні з іншими металами. ГДК становить  $0,001 \text{ мг/дм}^3$ , ГДК у воді водойми, яка використовується в рибогосподарських цілях, -  $0,005 \text{ мг/дм}^3$  [13].

Свинець відноситься до речовин I класу небезпеки. Тривале надходження сполук свинцю до організму призводить до появи хронічних захворювань. Головним чином свинець акумулюється у кістках. Свинець спричиняє анемію, порушення серцевого ритму, аритмію, порушує кровообіг, поліневрит м'язову гіпотонію, ниркову недостатність і розумову відсталість. Досліджено, що значне підвищення вмісту свинцю у навколишньому середовищі пов'язане зі спалюванням твердого палива, виносом зі стічними водами рудозбагачувальних комбінатів, металургійних заводів, шахт, хімічних підприємств. ГДК становить  $0,03 \text{ мг/дм}^3$ , ГДК у воді, яка використовується в рибогосподарських цілях, -  $0,1 \text{ мг/дм}^3$  [13].

Ртуть - високотоксичний метал. Бактеріальні процеси метилювання спрямовані на утворення метилртутних сполук, які у багато разів більш токсичні від мінеральних солей ртуті. Накопичується в організмах багатьох морських та прісноводних риб і потрапляють в організм людини. Сполуки ртуті вражають нервову систему людини, викликають зміни з боку слизової оболонки, порушення рухової функції і секреції шлунково-кишкового тракту, нервово-психічні порушення, запаморочення і постійні головні болі, знижується пам'ять, виникає загальна загальмованість. ГДК ртуті становить  $0,03 \text{ мг/л}$  [13, 14].

Якою б довершеною не була очистка стічних шахтних вод, але значна кількість важких металів потрапляє в природне середовище, що призводить до того, що природні водойми втрачають здатність до самоочищення.

Недосконалість технологій очищення стічних шахтних вод вугледобувних підприємств Західного Донбасу, призвели до значного погіршення якості вод р. Самара, станом на 2019 р. [16].

Води р. Самари, за середніми значеннями специфічних показників, відноситься до III класу якості та оцінюється як «посередня» за станом і «помірно забруднена» за ступенем чистоти. Найбільший вплив на якість вод р. Самари оказують важкі метали, а саме кадмій, нікель та мідь, що робить непридатним використання вод господарсько-побутового і технічного водопостачання, а також вона втрачає своє рибогосподарське значення.

Також води цієї водойми використовують у зрошенні сільськогосподарських угідь, що негативно впливає на стан агроecosystem і якість сільськогосподарської продукції і призводить до погіршення стану здоров'я населення. Стан поверхневих вод р. Самари є значимим для оцінки екологічної ситуації басейну р. Дніпро, який є головною водною артерією України [15, 16].

Отже, можна відмітити, що збільшення концентрації важких металів призводить до серйозних змін у щільності, різноманітності, групової структури видового складу фауни та флори водойм. А також регіональне забруднення малих та середніх річок важкими металами призводить до погіршення якості води у великих річках, що створює серйозну небезпеку для здоров'я населення.

## **1.2 Аналіз сучасних методів видалення важких металів з водного середовища**

### **1.2.1 Фізико-хімічні, електрохімічні та баромембранні методи очищення стічних вод від важких металів**

Забруднення водою важкими металами є однією з найсерйозніших проблем сьогодення, що робить актуальним поглиблення дослідження методів очищення стічних вод та пошук нових ефективних методів.

Зазвичай для очищення стічних вод від важких металів використовують фізико-хімічні, електрохімічні, баромембранні та біологічні методи.

До фізико-хімічних методів відноситься реагентний, сорбційний та метод феритизації. При застосуванні фізико-хімічних методів потрібно врахувати багато факторів таких як, рН, температура, час, природа десорбуючої речовини, об'єм стоків, складу та вмісту в них домішок [17].

Сорбційний метод полягає у тому, що в розчин, який вміщує іони сорбованого металу, додають сорбент, у співвідношенні приблизно 1:50, між твердою і рідкою фазами. Зазвичай використовують вуглецеві сорбенти, цеоліти, природні глини, кремнезем, торф і продукти його переробки, золи. Процес сорбції відбувається за умов нормальної температури та періодичного перемішування, та тривалості приблизно 7-8 годин. Економічно вигідним методом сорбції є за умови повторного використання сорбентів. Мінусом методу сорбції є недостатня якість очищення у кислому та нейтральному середовищі [18,2].

Суть реагентного методу полягає в трансформації розчинних у воді речовин у нерозчинні з додаванням різних реагентів з наступним відділенням їх від води у вигляді осаду. Як реагенти зазвичай використовують гідроксиди кальцію і натрію, карбонат натрію, сульфід натрію, різні відходи, наприклад феррохромовий шлак та ін. Осадження металів здійснюється у вигляді гідроксидів. Недоліки реагентного методу полягає у втраті цінних речовин разом з осадом, утворення великих об'ємів обводнених осадів та великі експлуатаційні витрати [17].

Суть методу феритизації полягає у відділенні магнітною сепарацією нерозчинених та інертних осадів з щільною феритною структурою. Цей метод є екологічно безпечним. Має високий ступінь ефективності очистки.

Тривалість очистки триває 20-30 хв за температури менше 60° С. Недоліком є висока вартість [17].

Електрохімічні методи є високоефективними, простими в експлуатації, дозволяють вилучати із водного середовища цінні елементи, часто без використання хімічних реагентів. Основними недоліками є велике споживання електроенергії та висока вартість. Основними електрохімічними методами є електрокоагуляція, електрофлотація та електродіаліз.

Електрофлотацію застосовують при очищенні стічних вод і вилученні металів із розведених розчинів. Суть цього методу полягає у розділенні іонів різних елементів, що мають однакові за величиною і знаком заряд.

При електрокоагуляції відбувається розчинення металу під дією електричного струму. Зазвичай цей метод застосовують із використанням сталевих або алюмінієвих анодів. Метод є високоефективним та простим в експлуатації але потребує значних витрат електроенергії.

Принцип методу електродіалізу полягає вибіркового перенесенні іонів напівпроникні іонообмінні мембрани під дією постійного електричного струму. Застосування методу електродіалізу потребує попереднього очищення від механічних і органічних забруднень. Цей метод є ефективним але складним в експлуатації, коштовним та потребує високих енергозатрат.

До баромембранних методів належать: зворотній осмос, мікрофільтрація, ультрафільтрація та нанофільтрація. Процес зворотнього осмосу відбувається за рахунок одностороннього надходження води через напівпроникну мембрану. При ультрафільтруванні відбувається розділення систем, в яких молекулярна маса розчинених компонентів набагато більша за молекулярну масу розчинника. Достатньо ефективним є метод нанофільтрування – він дозволяє вилучати із води колоїдні частки, з дуже високою ефективністю. Мікрофільтрування застосовують для відокремлення від розчинника завислих та колоїдних часточок розміром 0,1–10 мкм.

Перевагами баромембранних методів є невеликі енерговитрати, прості в експлуатації, малі габарити установок. Недоліки цих методів полягає у



виникненні явища концентраційної поляризації, що призводить до погіршення характеристик мембранних апаратів та необхідність у попередній підготовці розчинів [2, 17].

Таким чином, до переваг фізико-хімічних, електрохімічних та баромембранних методів можна віднести високий рівень ефективності очистки. Недоліками є великі енерговитрати, складність обслуговування апаратури, використання хімічних реагентів, висока вартість та потреба у попередньому очищенні води.

### **1.2.2 Біологічні методи очищення стічних вод від важких металів**

На сьогодні, на вугледобувних підприємствах майже не реалізовано ефективних методів очистки стічних шахтних вод від важких металів. Відомі методи мають низьку надоліків, пов'язаних з високою вартістю, утворенням шламів та енергоємністю [19, 20].

Біологічні методи очищення стічних вод відрізняються високою ефективністю та екологічністю. Існують такі методи біологічного очищення як бактеріальне вилюговування, біогеохімічні бар'єрні зони, препарати ПАР мікробного походження та ін. [21].

Біологічні методи очищення є високоефективними при дотриманні певних вимог:

- дотримання оптимальної температури ( у межах 20–30° С);
- підтримання рН у межах 6-8;
- достатня кількість поживних речовин у середовищі;
- концентрація розчиненого кисню не нижче 2 мг/л [22].

Використання біогеохімічні бар'єрних зон (біоінженерні очисні споруди), на сьогодні, є одним з найперспективніших методів очищення водою від значної частини біогенних забруднень та токсичних речовин (важких металів, нафтопродуктів, фенолів та ін.).

Біоінженерні очисні споруди (біоплато) – це штучна система

очищення, у яких відбувається аеробне окиснення (процес мінералізації) органічних сполук відбувається за участю мікроорганізмів, водоростей і вищих водних рослин (рис 1.1).

Важливим, у використанні біогеохімічних бар'єрів, є вибір рослин і мікроорганізмів. Характерним, для стічних шахтних вод вугледобувних підприємств, є підвищена концентрація важких металів, що може бути згубною для багатьох водних рослин. Тому рослини повинні мати високу поглинальну здатність, бути стійкими до впливів токсичних речовин та мати здатність до адаптації до змін гідрологічного режиму [18].

1 – вхід, 2 – поверхня води, 3 – осад, 4 – коренева система, 5 – водонепроникна мембрана, 6 – водні рослини (макрофіти), 7 – вихід

### **Рис 1.1 – Схема біоплато**

Після доочистки вод у біоінженерних спорудах, їх можна повторно використовувати в обіговому водопостачанні, що скоротить водоспоживання підприємства та матеріальні витрати.

Використання біоплато має низку значних переваг:

- ефективна доочистка металовмісних стічних вод;
- не вимагає витрат електроенергії;
- не вимагає значних капітальних витрат;
- не утворює шламів.

Набуває поширення використання мікробних поверхнево-активних речовин для очистки водного середовища від токсичних забруднювачів. Зазвичай важкі метали спричиняють згубний вплив на мікроорганізми, але

деякі з них мають певну резистентність до високих концентрацій металів та навіть здатні ефективно адсорбувати їх [23, 24].

Бактеріальне вилуговування металів – здатність ряду ацидофільних мікроорганізмів вибірково виділяти певні елементи з багатокomпонентних руд, переводячи їх в розчинний стан. Метод бактеріального вилуговування має велике значення для екологічного процесу очищення стічних вод від важких металів. Даний метод дозволяє отримувати метали навіть, якщо їх вміст у середовищі у дуже незначних кількостях.

Для застосування методу очищення стічних вод мікроорганізмами, зазвичай використовують бактерії, завдяки яким відбувається нітрифікація органічних речовин. За участю анаеробних бактерій відновлюються сульфати до сульфіду, а останні зв'язують важкі метали у важкорозчинні осад  $MeS$  і таким чином видаляються з води. Певні бактерії сприяють біологічному відновленню хроматів та біхроматів у сполуки  $Cr(III)$ , які утворюють осад  $Cr(OH)_3$ .

Одним із сучасних методів очищення стічних вод є біофільтри (рис. 1.2).

1 – подача води через розбризкувачі; 2 – фільтрувальний матеріал із фіксованою біомасою (біоплівкою); 3 – відведення очищеної води

**Рис. 1.2 – Схема біофільтра**

Біофільтри це біореактор з об'ємним завантаженням фільтрувального елемента, на якому зафіксована біоплівка, завдяки якій відбувається активне біологічне окиснення. Забруднена вода проходить через матеріал (пластмаса, тканина), вкритий біоплівкою. Забруднюючі речовини сорбуються плівкою та залишаються у фільтрувальному матеріалі. Після відмирання біоплівка виноситься із резервуара з очищеною водою їх [25].

Біологічні методи очищення води мають ряд переваг у порівнянні із іншими традиційними методами очистки стічних вод від іонів важких металів:

- ефективність очистки;
- легкість в експлуатації;
- низькі енерговитрати;
- відсутність відходів;
- низька вартість.

Таким чином, враховуючи високу ефективність і екологічність біотехнологічних методів захисту і відтворення довкілля, вважаємо за доцільне використовувати їх для розробки можливого технологічного рішення щодо зниження екологічної небезпеки від вмісту важких металів у стічних шахтних водах для поверхневих річок Західного Донбасу.

## РОЗДІЛ 2 ХАРАКТЕРИСТИКА CHLORELLA VULGARIS ЯК ОБ'ЄКТА ЕКОЛОГІЧНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ

### 2.1 Будова, розмноження та хімічний склад хлорели

*Chlorella vulgaris* (рис. 2.1) – зелена одноклітинна мікродорость роду *Chlorella*, родини *Chlorellaceae*, розміром до 10 мкм. Зазвичай місцем її поширення є прісноводні водойми, але також може існувати в ґрунті та на корі дерев [26, 29].

*a*

*б*

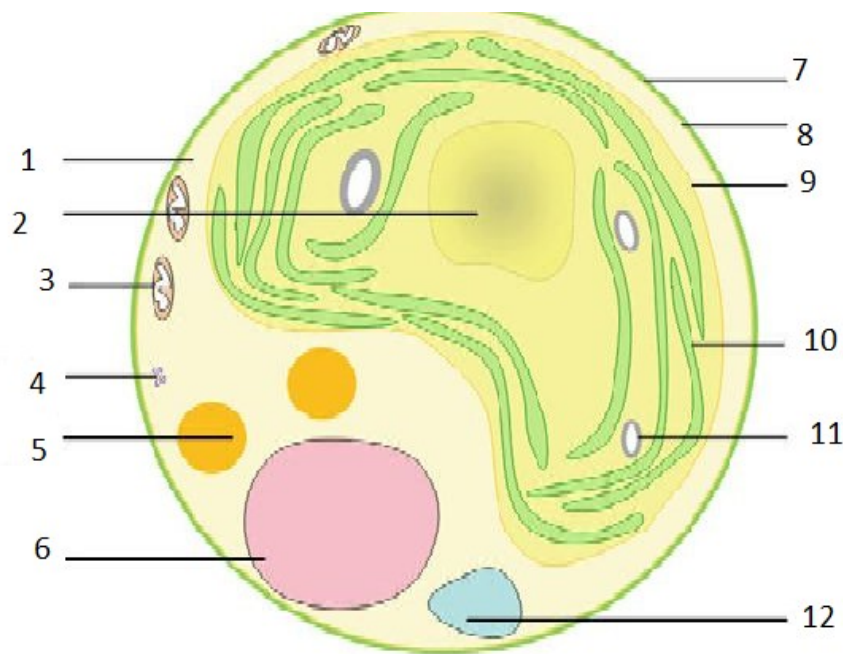
**Рис 2.1 – *Chlorella vulgaris* (а) під мікроскопом (б) схематична будова**

Клітинною стінкою хлорели є двоконтурна целюлозна оболонка, що забезпечую захист, від хімічних та механічних подразників, та зберігає цілісність клітини. Клітинна стінка містить хітин, що обумовлює жорсткість клітини, а також на цю характеристику може впливати наявність спорополеніну [29].

*Chlorella vulgaris* може змінювати форму клітини та співвідношення хімічних речовин. За нормальних умов середовища існування хлорели, такі зміни відбуваються лише протягом певних фаз росту. За несприятливих умов існування, таких як низька або висока температура, недостатнє освітлення, недостатня кількість поживних речовин призводить до негативних змін у хімічному складі хлорели (зменшення вмісту білку, ліпідів тощо) [26].

*Chlorella vulgaris* є одноядерною мікрободоростю круглої форми, яка не має джгутиків або війок. Органели, що входять до складу хлорели представлені на рисунку 2.2. Зазвичай одна клітина здатна виконувати усі життєво необхідні функції та процеси.

Система розгалужених каналців ендоплазматичного ретикулума пронизує цитоплазму та зазвичай утворює невеликі пухирці з мембраною, в яких знаходяться рибосоми. Кількість мікротрубочок у клітині залежить від її функціонального стану. Після завершення процесу цитокінезу мікротрубочки зникають. Характерним для клітин хлорели є наявність пероксисом [27].



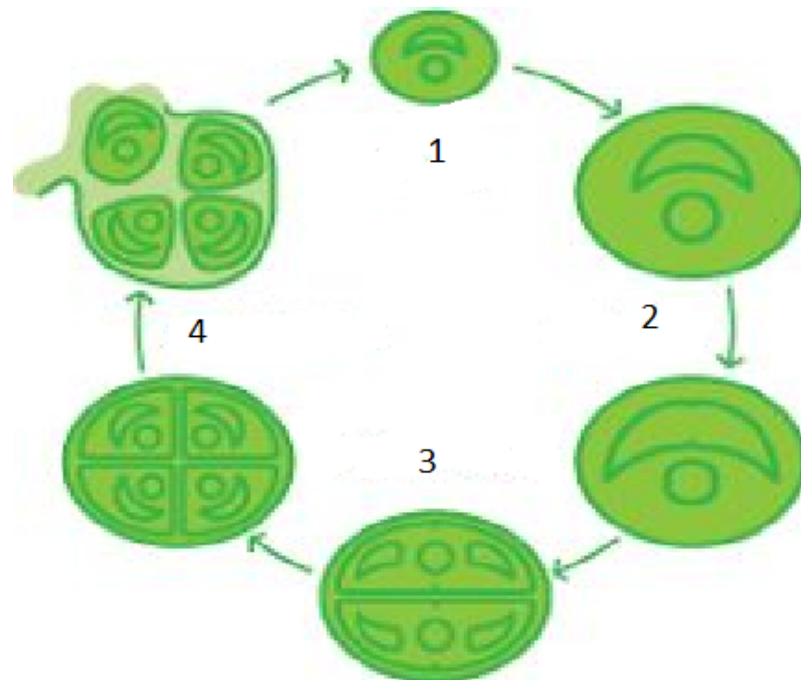
1-цитоплазма; 2-піреноїд; 3-мітохондрії; 4-комплекс Гольджі; 5-ліпідні краплі; 6-ядро; 7-клітинна стінка; 8-плазматична мембрана; 9-хлоропласт; 10- тилакоїди; 11- крохмаль; 12-вакуоль

**Рис 2.2 - Схематична будова *Chlorella vulgaris***

Хлоропласти хлорели оточені шаром, що складається з двох мембран. Зовнішня мембрана проникна для метаболітів та іонів, внутрішня мембрана відповідає за транспорт білків. Різні відтінки зеленого кольору у забарвленні можуть бути обумовлені різним співвідношенням хлорофілів а і b,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\epsilon$ -каротинів, а також ксантофілів, лютеїну, віолаксантину, неоксантину, зеаксантину, антераксантину.

Піреноїд містить рибулозо-1.5-бісфосфат-карбоксилазу і є центром фіксації вуглекислоти. Крохмальні зерна можуть утворюватися всередині хлоропласту навкруги піреноїда та в стромі, особливо при несприятливих умовах росту [27].

Єдиним способом розмноження хлорели є безстатеве розмноження (рис 2.3). За наявності сприятливих умов, розмноження може протікати дуже швидко. Поділ клітин відбувається шляхом мітозу. Кожна з клітин мікроводоростей діляться від 2 до 3 разів, та утворює відповідно 4 або 8 дочірніх клітин., які вже всередині материнської оболонки (рис 2.4) покриті власною оболонкою [28].



1 – рання фаза росту клітин; 2 – пізня фаза росту клітин; 3 – фаза поділу хлоропластів; 4– фаза дозрівання дочірніх клітин

**Рис 2.3 - Розмноження клітин *Chlorella vulgaris***

До складу *Chlorella vulgaris* входить багато цінних речовин, загалом близько 60 мікроелементів (рис 2.5) У висушеній біомасі мікроводоростей міститься близько 50% білків, включаючи амінокислоти (лізин ( $\approx 10\%$ ), метіонін ( $\approx 1\%$ ), триптофан ( $\approx 2\%$ ), аргінін ( $\approx 15\%$ ), гістидин ( $\approx 3\%$ ), лейцин ( $\approx 6\%$ ), ізолейцин ( $\approx 3\%$ ), фенілаланін ( $\approx 2\%$ ), треонін ( $\approx 2\%$ ), валін ( $\approx 5\%$ )), 30%

вуглеводів, включаючи крохмаль, целюлозу, геміцелюлозу і розчинні цукру та 10% ліпідів.



**Рис 2.4 – Материнська клітина *Chlorella vulgaris* під мікроскопом**

У складі молодих клітин переважають білки, а у зрілих, що досягли стаціонарної фази росту, вуглеводи. Також під час стаціонарної фази росту відбувається синтез ліпідів. Співвідношення ліпідів, білків та вуглеводів може змінюватися при зміні абіотичних факторів [28].



**Рис 2.5 – Хімічний склад *Chlorella vulgaris***

До складу хлорели входять вітаміни груп B, C, PP, E, каротин. Також містяться біогенні елементи: ферум, купрум, манган, цинк, молібден, бор, кобальт, силіцій. Хлорела здатна до синтезу активних вторинних метаболітів, наприклад природний антибіотик «хлорелін», який ефективно захищає клітини від патогенних мікроорганізмів [28].



## 2.2 Фактори, що впливають на життєдіяльність хлорели

Хлорела здатна до швидкого розмноження, при дотриманні певних умов. Найбільш впливовими факторами на життєдіяльність хлорели є поживні речовини у середовищі, температура, світло та рН. Ці фактори впливають не тільки на здатність хлорели до росту, а й на її хімічний склад [29].

Температура є одним з основних факторів, що впливає на швидкість росту *Chlorella vulgaris*. Оптимальною температурою для швидкого розмноження хлорела є 25-30 °С, при температурах нижче 25 °С швидкість розмноження або сильно сповільнюється, або зупиняються зовсім. Більш сприятливим є коливання у 2-3 градуси ніж статичні температури 25 °С або 28 °С. Температурний фактор впливає не лише на швидкість росту, але й на ферментативні реакції, систему клітинної мембрани та морфологію мікроводоростей, при збільшенні температури спостерігається зменшення об'єму клітин [30]. Також збільшення температури призводить до більш активного метаболізму [31]. Від температурного режиму залежать хімічні процеси в культуральному середовищі, зі зростанням температури посилюється гідроліз солей.

Рівень рН середовища впливає на сорбцію металів на стінках клітин, на процес фотосинтезу та на ріст клітин. Оптимальний показник рН, для швидкого приросту клітин, є нейтральним або слаболужним та знаходиться у діапазоні приблизно від 7 до 8. Інші значення рН негативно впливають на життєдіяльність клітин. Кисле середовище може призвести до нестачі АТФ, бо підтримання нейтрального рН всередині клітини потребує додаткові витрати енергії для відкачування протонів з клітини [32]. У деяких експериментах, спостерігалось нормальна життєдіяльність мікроводоростей у лужному середовищі (рН 10) [33, 34].

Наявність поживних речовин у середовищі відіграють визначну роль у інтенсивності росту мікроводоростей та біосинтезу культури [35].

Продуктивний приріст біомаси хлорели відбувається за наявності поживних речовин 2 груп. Першою групою є мікроелементи (N, K, P, Ca, Mg, S), до другої групи біогенні елементи (Mn, Cu, Zn, Mo, Co, B).

Нестача Нітрогену у середовищі, сповільнення приросту біомаси, зменшення виробітки хлорофілу та збільшення відсоткової кількості вуглеводів та ліпідів. Нітроген входить до складу амінокислот, білків, протеїнів, ферментів тощо. Наявність Сульфуру необхідно у середовищі, бо він входить до складу таких необхідних сполук як білки, амінокислоти та ферменти. При недостатній кількості Сульфуру збільшується розмір клітин, руйнується хлорофіл, різко зменшується кількість білку та збільшується кількість ліпідів, рівень вуглеводів не змінюється. Фосфор забезпечує нормальний азотний та вуглеводний обмін та входить до складу нуклеїнових кислот, фосфоліпідів та АТФ. При нестачі Фосфору зростає кількість вуглеводів та ліпідів [36]. Калій є необхідним для синтезу білків, вуглеводів, ліпідів, хоча не входить до їх складу. Відсутність Калію сповільнює процес фотосинтезу. Магній є важливим біогенним елементом, що входить до складу хлорофілу, бере участь у багатьох ферментативних процесах та дефіцит цього елемента призводить до сповільнення синтезу білку та порушує обмін нуклеїнових кислот. Натрій є необхідним елементом для підтримання нормального росту мікробіот та його нестача призводить до зменшення хлорофілу та органічного азоту в клітинах [37]. Залізо входить до складу залізовмісних білків, участь яких необхідна для проведення окисно-відновних реакцій. Манган бере участь у фотохімічних процесах та його нестача пригнічує ріст клітин та змінює їх морфологію. Достатня кількість міді у середовищі необхідна для фотосинтезу, а також впливає на фоторедукцію. У складі більшості ферментів є цинк, що є необхідним для регулювання білкового, вуглеводного та фосфорного обміну, фотосинтезу, біосинтезу нуклеїнових кислот, окисно-відновний потенціал у клітинах. Бор збільшує число клітин та вихід біомаси, здійснюючи помітний вплив на ріст клітин після поділу [36].

Хлорела є фотосинтезуючим організмом, тому одним із найважливіших факторів для підтримання життєдіяльності мікроводоростей є інтенсивність світла. Зі зростанням інтенсивності світла зростає кількість продуктів, що виробляється під час фотосинтезу. Однак є певна межа у кількості світлі, перевищуючи яку виникає явище фотоінгібування, яке визначається як сповільнення процесу фотосинтезу унаслідок надлишку радіації та свідчить про те, що організм знаходиться у стресі. Під час культивування, середовище потрібно обладнати таким чином, щоб забезпечити циркуляцію клітин, для максимально рівномірного контакту усіх клітин зі світлом [59].

### 2.3 Використання хлорели у господарстві

Зазвичай *Chlorella vulgaris* використовується для виробництва біомаси, у якій міститься багато клітковини, білків, ліпідів та вуглеводів та інших цінних елементів. На сьогодні використання хлорела набуває поширення у багатьох сферах. Так, наразі хлорелу використовують у виробництві кормів і продуктів харчування, лікарських препаратів, біопалива, косметичних засобів, добрив та багато інших побічних продуктів [59].

Виробництво біодизелю з мікроводоростей є третім поколінням поновлювальних джерел рослинного походження. У сухій біомасі мікроводоростей вміст ліпідів становить від 20 до 50%, тому є доцільним використання хлорели, як сировини для виробництва біодизелю. Перевагами використання хлорели як сировини для виготовлення біодизелю є: швидкий приріст біомаси, більший вихід палива з одиниці площі, на відміну від інших сільськогосподарських культур, легкість виробництва, висока ємність поглинання вуглекислого газу, мікроводорості невибагливі до якості води для зростання, а також забезпечуючи додатковий ступінь біологічної очистки стічних вод. Але для встановлення конкурентоспроможності з традиційними видами палива необхідна ретельна оцінка економіки виробництва. [38, 59].

Основними шляхами виробництва біопалива з біомаси

мікроводоростей є:

- використання біомаси як біопалива;
- отримання біопалива з ліпідів та вуглеводів, що містяться у клітинах мікроводоростей;
- отримання біопалива з продуктів життєдіяльності мікроводоростей, таких як, етанол та метан.

*Chlorella Vulgaris* відрізняється більшим вмістом білків, ліпідів, вуглеводів, амінокислот та мікроелементів, у порівнянні не тільки з водними, але й з наземними рослинами [38]. Змінюючи умови культивування можна змінювати різне співвідношення запасних та поживних речовин у клітинах хлорели. У роботі [39] була проведена оцінка параметрів біодизельного палива з біомаси *Chlorella Vulgaris*. Була виявлена його подібність його параметрів до звичайного дизельного пального. Було встановлено, що такий вид біодизелю є потенційною альтернативою пального отриманого з нафти. Тому є доцільним використання саме цієї культури для виробництва біопалива.

Широкого використання хлорела набуває і в виробництві лікарських засобів, зокрема у виготовленні харчових добавок. Хлорела багата на рослинний білок, та містить у значних кількостях вітаміни та мікроелементи. У роботі [40] зазначено, що хлорела може полегшити гіперглікемію, гіперліпідемію, а також захистити організм від раку та хронічної обструктивної хвороби легень. Нещодавно було удосконалено виробництво вітамінів, зокрема В12, завдяки *Chlorella Vulgaris*, оскільки ця мікроводорість багата на цей елемент. У дослідженні з впливу *Chlorella vulgaris* на функції печінки, було виявлено, що хлорела може суттєво знизити рівень ферменту АСТ, який сигналізує про пошкодження печінки [41]. Згідно дослідження [42] встановлено, що *C. vulgaris* покращує регенеративну здатність молодих і старих міобластів, що вказує на його потенціал сприяти регенерації м'язів.

У харчовій промисловості хлорелу додають у такі продукти як

макарони, печиво, хліб, закуски, батончики, йогурти тощо. Хлорела є джерелом поживних речовин та джерелом натурального харчового барвника [43]. Однак засвоюваність білка хлорели доволі середня, через низьку перетравність [44]. У дослідженні здатності хлорели до засвоювання (з допомогою триптозана) було виявлено, що перетравність хлорели склала близько 45%: для сухих клітин 63 %, для клітин зі зруйнованими оболонками – 75 %, екстрагованого протеїну – 86 %. Також було виявлено, що хлорела погано перетравлюється тваринами з багатокамерними шлунками, не дивлячись на високу перетравність чистого протеїну. Інертна і щільна оболонка хлорели перешкоджає практичному використанні їх в раціонах тварин з багатокамерними шлунками і харчуванні людини [44].

Набуває поширення використання хлорели у косметології. В якості натурального барвника широко використовують хлорофіли хлорели. Також хлорела має у своєму складі сполуки, що можуть захищати шкіру від дії ультрафіолетового випромінення [43].

У сільському господарстві використовують хлорелу у якості добрив, корму для птахів і худоби, а також у бджільництві та рибному господарстві. Зазвичай хлорелу застосовують як пасту або суспензію, у деяких випадках як порошок або гранули. Додавання хлорели як додаток до корму підвищує виробництво м'ясної продукції до 30%, молочної до 25%, а також знижує витрати кормів до 20%. Перевагою використання хлорели ще пов'язана зі здатністю хлорели запобігати появи різних захворювань [45]. Також додавання хлорели до раціону тварин, підвищує їх харчову цінність за рахунок збільшення загального вмісту каротиноїдів [46].

Додавання культури хлорели у водойми призводить до покращення їх органолептичних якостей, зменшує цвітіння води, кількість забруднюючих речовин та є додатковим кормовим ресурсом. Завдяки цим якостям хлорела набула широкого використання у рибному господарстві [26].

Використання хлорели у якості добрив призвело до покращення стану кореневої системи рослин, а також мало позитивний вплив на його ростові

якості [47]. У дослідженні впливу суспензії з хлорели на ріст та пігментний склад мангольди було виявлено, що такий вид добрив позитивно впливає на початковий ріст та збільшує пігментний склад цієї рослини [48].

Також хлорела має великий потенціал у використанні для відновлення родючості земель. Вони дозволяють поповнювати запаси органічних речовин, що призводить до збільшення виробництва сільськогосподарської продукції. Також хлорела може бути використана як індикатор стану ґрунтів і водойм. При використанні хлорели як біоіндикатора зазвичай вимірюють такі показники як інтенсивність розмноження, рухлива активність, іммобілізація клітин, біоелектричні реакції, фотосинтетична активність клітин, імпеданс суспензії, проникність мембрани та активний транспорт.

Перевагами використання мікродоростей у якості біоіндикаторів є:

- підсумовують біологічно важливі дані щодо навколишнього середовища;
- здатні реагувати на короточасні й залпові викиди токсикантів;
- реагують на швидкість змін, що відбуваються в довкіллі;
- вказують на місця накопичення забруднювачів та шляхи їх міграції;
- дають змогу розробляти оцінки шкідливого впливу токсикантів на людину й живу природу на ранніх стадіях та нормувати допустиме навантаження на екосистеми [49].

## **2.4 Застосування хлорели для біотехнологій очистки стічних вод**

*Chlorella vulgaris* набула широкого застосування в екологічних технологіях щодо очистки стічних вод з різними забруднюючими речовинами. Частина споруд для очищення стічних вод заснована на біологічному методі очищення. Найбільш економічно вигідним є методом є використання мікродоростей. Мікродорості здатні не лише до засвоєння органічних речовин та біогенних елементів, а й здатні виділяти кисень у результаті споживання вуглекислого газу та мінеральних елементів. Потрапляючи у водне середовище кисень сприяє окисненню активним мулом

забруднюючих речовин, таким чином інтенсифікується процес очищення стічних вод від різноманітних забруднень [59].

Використання хлорели для біологічного очищення стічних вод має переваги у ефективності очистки перед традиційними методами. Біологічними методами можна виділити до 80% органічних забруднень, при цьому за рахунок механічного та фізико-хімічного методів видаляється лише 30-40%. Комплекс бактерій та мікроводоростей здатен до очищення середовища від ксенобіотиків, таких як продукти органічного синтезу. Так, унаслідок заселення хлорели у первинний відстійник знизився рівень біогенних речовин, також змінилась концентрація органічних речовин, рівень хімічного споживання кисню знизився приблизно у 2 рази [50].

Також можливе використання хлорели для очищення повітря від газових викидів. *Chlorella vulgaris* є автотрофним фото синтезуючим організмом та здатна до ефективного споживання вуглекислого газу. Оксиди Нітрогену та Сульфури у певних кількостях споживаються даними мікроорганізмами, не пригнічуючи його ростові показники. Дослідження з біоремедіації димових газів, що утворюються у результаті діяльності металургійних підприємств, показало, що ефективність видалення CO<sub>2</sub> може досягати 60%, NO до 70% та SO<sub>2</sub> до 50% [51]. Авторами роботи [52] було встановлено, що 8 м<sup>2</sup> здатні видалити з повітря вуглекислий газ та замінити його киснем. Водорості вирощували під штучним освітленням

*Chlorella vulgaris* може використовуватися у безвідходній технології біологічної очистки стічних вод. Внаслідок одного з досліджень стосовно здатності хлорели до очищення, яке проводилось на птахофабриці в 2013 році, було встановлено, що розвиток хлорели в стічних водах фабрики привів до зниження забруднюючих речовин більш ніж на 90%, а знезаражування на 100%. Отримана біомаса мікроводоростей може використовуватись у якості кормової добавки в господарстві, тваринництві та птахівництві [53].

Аналіз літератури показав, що мікроводорості *Chlorella vulgaris* можуть ефективно видаляти барвники та важкі метали за стічних вод текстильних

виробництв [54]. Дослідження потенційного використання хлорели для біоремедіації показало, що цей мікроорганізм має здатність ефективно поглинати важкі метали [55].

Ефективним підходом для зниження рівня забруднення водойм та покращення їх органолептичних якостей, є біоремедіація водойм суспензією хлорели, яка оснований на альголізації водойм планктонними штамами зеленої мікроводорості *Chlorella vulgaris*. Технологія заснована на біологічних властивостях живої планктонної хлорели пригнічувати дію синьо-зелених водоростей (ціанобактерій). Хлорела проявляє природну конкуренцію та здатна впливати на витіснення синьо-зелених водоростей з водойм, а також ліквідує наслідки «цвітіння»: очищує воду, насичує її киснем, відновлює популяцію фіто- та зоопланктону [26].



## РОЗДІЛ 3 ОБГРУНТУВАННЯ ЗАХОДІВ ДЛЯ ДООЧИЩЕННЯ ПОВЕРХНЕВИХ СТІЧНИХ ВОД ВІД ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

В даній кваліфікаційній роботі досліджується можливість використання мікроводоростей *Chlorella vulgaris* для обґрунтування біотехнології зниження вмісту важких металів у шахтних водах з метою мінімізації їх негативного впливу на стан природних вод.

Як свідчать літературні дані, вуглевидобування супроводжуються утворенням значних обсягів шахтних вод, які характеризуються високим вмістом важких металів, які можуть у 10 разів перевищити ГДК. Особливу небезпеку на стан навколишнього середовища та на здоров'я людини становлять кадмій та свинець.

### 3.1 Культивування *Chlorella vulgaris*

Для продуктивного приросту біомаси під час культивування мікроводоростей *Chlorella vulgaris* є необхідним дотримання певних умов. Обов'язковими факторами для підтримання життєдіяльності *Chlorella vulgaris* є достатня кількість світла, так як хлорела є фотосинтезуючою рослиною, достатня кількість поживних речовин у середовищі та вуглекислий газ. Вуглекислий газ у середовищі зазвичай є єдиним джерелом вуглецю, тому при культивуванні хлорели, у лабораторних умовах, є обов'язковим використання акваріумного компресору, який ще забезпечує додаткову циркуляцію клітин для нормального протікання процесу фотосинтезу.

Також важливою умовою при культивуванні є поживні речовини. Для ефективного приросту біомаси необхідною є наявність як мінімум 10 мінеральних речовин. Обов'язково у середовищі повинна бути наявність фосфору, азоту, магнію, сірки та заліза.

Найбільш розповсюдженими є 7 типів поживних середовищ (табл. 3.1).

При виборі середовища для культивування необхідно звернути увагу на вміст азоту та фосфору.

Таблиця 3.1 – Рецепти поживних середовищ для *Chlorella vulgaris*, г/л

| Речовина  | Поживне середовище |       |       |         |       |              |         |
|---|--------------------|-------|-------|---------|-------|--------------|---------|
|   | Кнопа              | Прата | Тамія | Майерса | № 3   | Ягужинського | ЛГУ     |
| Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | 0,25               | –     | –     | –       | –     | –            | –       |
| MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O            | 0,06               | 0,01  | 2,5   | 1,204   | 0,75  | 0,1          | 0,3     |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                 | –                  | 0,01  | –     | –       | –     | –            | 0,3     |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                 | 0,06               | –     | 1,25  | 1,224   | 1,5   | –            | –       |
| KCl   | 0,08               | –     | –     | –       | –     | –            | –       |
| KNO <sub>3</sub>                                | –                  | 0,1   | 5,0   | 1,213   | –     | 0,5          | 2       |
| NH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>               | –                  | –     | –     | –       | 0,3   | –            | –       |
| FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O            | –                  | –     | 0,003 | –       | –     | 0,002        | –       |
| Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> | –                  | –     | –     | 0,0747  | –     | –            | –       |
| FeCl <sub>3</sub>                               | Сліди              | Сліди | –     | –       | Сліди | –            | –       |
| *Розчин мікроелементів                          | –                  | –     | 1 мл  | 0,00005 | –     | –            | 0,00005 |
| ЕДТА  | –                  | –     | 0,037 | –       | –     | –            | 0,01    |

*Примітка:* \*Розчин мікроелементів: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 2,86 г/л; MnCl<sub>2</sub> × 4H<sub>2</sub>O – 1,81 г/л; ZnSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O – 0,222 г/л; MoO<sub>3</sub> – 176,4 мг/10 л; NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> – 229,6 мг / 10 л.

При культивуванні у лабораторних умовах необхідно дотримуватися температури приблизно 28–30 °С, але можливе відхилення у 2–3 градуси. Оптимальним рН середовища є значення від 5 до 7.

Також необхідно врахувати, що вода для культивування може бути додатковим джерелом мінеральних речовин. Колодязна вода буде найбільш підходящою, через високий вміст поживних речовин та невелику кількість мікроорганізмів. Також можливе використання водопровідної води, ставкової та води зі струмків.

Для проведення експерименту з визначення життєздатність клітин та швидкість зростання була обрана водопровідна відстояна вода. Як середовище для культивування було обране Культуральним середовищем № 3, як найбільш придатне для даного експерименту.

Складові речовини культурального середовища №3 були використанні у наступних кількостях:

- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 15 г/л;
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 30 г/л;
- $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  – 6 г/л;

Спочатку перевіряли життєздатність клітин та швидкість зростання, для чого хлорелу культивували протягом 7 днів у скляному акваріумі розміром 20 л (рис. 3.1). Культивування відбувалось з додаванням поживного середовища № 3, при природному освітленні та температурі, а також примусовому додаванню повітря через акваріумний компресор.

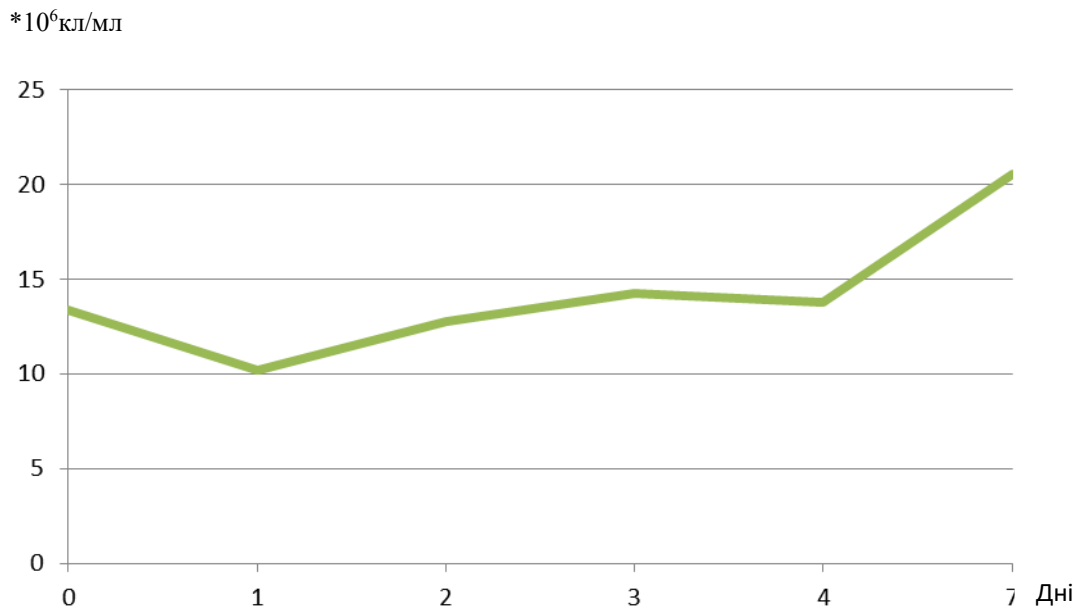


**Рис 3.1 – Культивування *Chlorella vulgaris***

Протягом 7 днів культивування мікроводорості були здатні підтримувати життєдіяльність і не втратили можливості до розмноження, що видно з рисунку 3.2. Після різкого зменшення кількості клітин на другий день культивування, що може бути пов'язано з адаптацією клітин до нових умов існування, зокрема поживного середовища, температури та освітлення, спостерігається приріст біомаси мікроводорості протягом тижня культивування.

Потім на фазі активного зростання (експоненціальна фаза) 900 мл отриманого розчину зі щільністю клітин у  $20,55 \cdot 10^6$  кл/мл додавали до експериментальних ємностей з додатковий навантаженням середовища

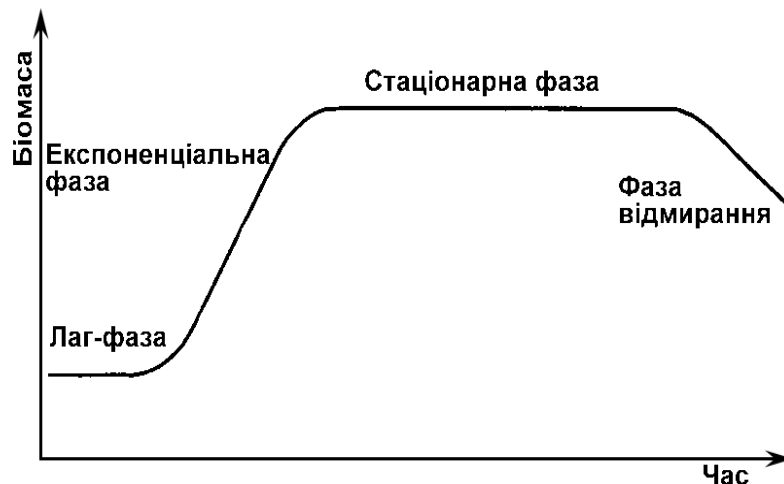
важкими металами.



**Рис 3.2 – Приріст клітин *Chlorella vulgaris* протягом 7 днів культивування**

### 3.1.1 Криві росту мікроорганізмів

Крива росту мікроорганізмів описує залежність кількості клітин до проміжки часу. За умов стаціонарного (періодичного) культивування, що проходить без поновлення культурального середовища, мікроорганізми проходять певні фази росту та періоди. Зазвичай крива росту організмів, під час періодичного культивування, має S-подібну форму (рис. 3.3).



**Рис 3.3 – Крива росту мікроорганізмів**

Виділяють 5 основних фаз росту мікроорганізмів:

– лаг-фаза є початком культивуванням мікроорганізмів. Під час цієї фази відбувається адаптації мікроорганізмів до нового середовища існування. Чисельність клітин змінюється у незначних кількостях. Лаг-фаза може тривати від декількох хвилин до доби;

– лог-фаза або експоненціальна фаза починається з моменту завершення адаптації мікробудоворостей. Під час цієї фази відбувається максимальний приріст клітин;

– фаза уповільненого росту. Під час даної фази відбувається поступове сповільнення росту мікроорганізмів;

– стаціонарна фаза характеризується незначним приростом біомаси. Сповільнюється інтенсивність метаболізму клітин, накопичуються метаболіти у великих кількостях;

– фаза відмирання – кількість клітин помітно зменшується, йде відмирання клітин;

До експериментальних ємностей додавали розчин з лог-фази, коли приріст клітин досяг максимуму.

### **3.1.2 Метод підрахунку біомаси із застосуванням камери Горяєва**

Для визначення продуктивності мікроорганізмів необхідно зробити підрахунок біомаси на одиницю об'єму чи площі за одиницю часу. Зазвичай використовують наступні методи:

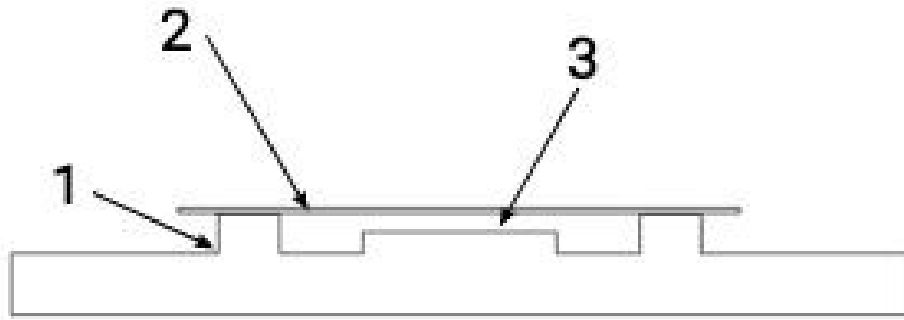
– підрахунок клітин за допомогою спеціальної лічильної камери під мікроскопом;

– за зміною у вазі біомаси;

– обчислення оптичної густини суспензії.

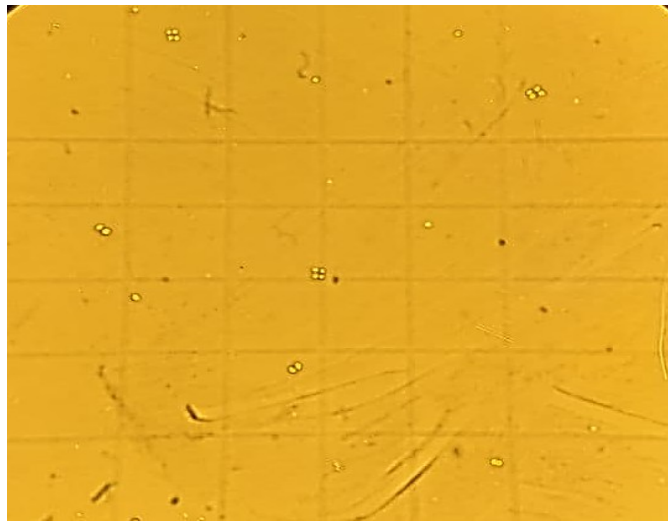
У наших дослідженнях використовували лічильну камеру Горяєва для підрахунку клітин під мікроскопом Olympus CX1 із застосуванням окуляра 10x та об'єктиву 40x.

Камера Горяєва є оптичним пристроєм для підрахунку клітин в заданому об'єму рідини (рис 3.4). Була винайдена українським лікарем Н. К. Горяєвим. Лічильна камера Горяєва представляє собою прозорий скляний паралелепіпед (предметне скло), з нанесенням мікроскопічної сітки, що містить великі і малі квадрати. розміри малих поділок клітини сітки становлять 0,05 мм, а великих – 0,2 мм (рис 3.5).



1 - бічна площа; 2 - покривне скло; 3 - лічильна камера

**Рис 3.4 – Схематичне зображення камери Горяєва**



**Рис 3.5 – Клітини *Chlorella vulgaris* в камері Горяєва**

Підрахунок у камері Горяєва відбувається за наступною методикою:

1. Приготування суспензії (Наприклад, 2 мл середовища із хлорелою розводиться у 4 мл дистильованої води);
2. Очистити поверхню камери від забруднень та нанести краплю отриманої суспензії (на сітку);

3. Накрити покривним склом, притерти до бокових стінок предметного скла, щоб розрахункове значення об'єму камери відповідало об'єму суспензії;

4. Розпочати підрахунок мікроорганізмів у 10 великих квадратів, рухаючись по діагоналі.

5. Розрахувати середнє арифметичне значення кількості клітин в вадраті.

6. Підрахувати кількість клітин в 1 мл за формулою 3.1:

$$X = N \cdot 2.5 \cdot 10^5 \quad (3.1)$$

де  $X$  – кількість клітин в 1 мл,

$N$  – кількість клітин над великим квадратом.

При роботі з камерою Горяєва важливо стежити, щоб її робочі поверхні залишалися сухими і чистими. Крім того, при підрахунку клітин не можна допускати наявності повітряних бульбашок на сітці камери, так як вони можуть заважати точності підрахунку.

## 3.2 Результати досліджень

### 3.2.1 Дослідження швидкості росту клітин *Chlorella vulgaris* у середовищі з додатковим навантаженням важкими металами

Для визначення ростових можливостей *Chlorella vulgaris* на розчинах з додатковим навантаженням важких металів (Cd та Pb на рівні ГДК) та без навантаження важкими металами (контрольний розчин), мікроводорості культивувалися протягом 3 днів (рис. 3.6–3.9). Для проведення експерименту з визначення біоаккумуляційних показників мікроводоростей при культивуванні на розчинах з підвищеним вмістом свинцю та кадмію проводили забір клітин для інокуляції за умов попереднього експоненціального зростання культури *Chlorella vulgaris*.

Визначення життєздатності клітин проводили у трьох варіантах:

- №1 – в першому зразку було створено розчин з із загальною концентрацією свинцю 0,03 мг/л. До 900 мл хлорели ( $20,55 \cdot 10^6$  клітин в 1 мл) було додано 100 мл розчину  $Pb(NO_3)_2$  із загальною концентрацією свинцю 0,03 мг/л;

- №2 – в другому зразку було створено розчин із загальною концентрацією кадмію 0,001 мг/л. До 900 мл хлорели ( $20,55 \cdot 10^6$  клітин в 1 мл) було додано 16 мл розчину  $CdCl_2$  із загальною концентрацією кадмію 0,03 мг/л та 84 мл дистильованої води;

- №3 – в третьому зразку було створено розчин без навантаження середовища важкими металами (контроль). До 900 мл хлорели ( $20,55 \cdot 10^6$  клітин в 1 мл) було додано 100 мл дистильованої води.



а

б

**Рис 3.6 – *Chlorella vulgaris* в нульовій(а) та третій(б) день культивування у розчині із загальною концентрацією кадмію 0,001 мг/л**

В табл. 3.2 наведені результати експериментальних даних вирощування *Chlorella vulgaris* на розчинах з додатковим навантаженням важкими металами на рівні ГДК та без додавання важких металів.





а

б

**Рис 3.7 – *Chlorella vulgaris* в нульовій(а) та третій(б) день культивування у розчині із загальною концентрацією свинцю 0,03 мг/л**

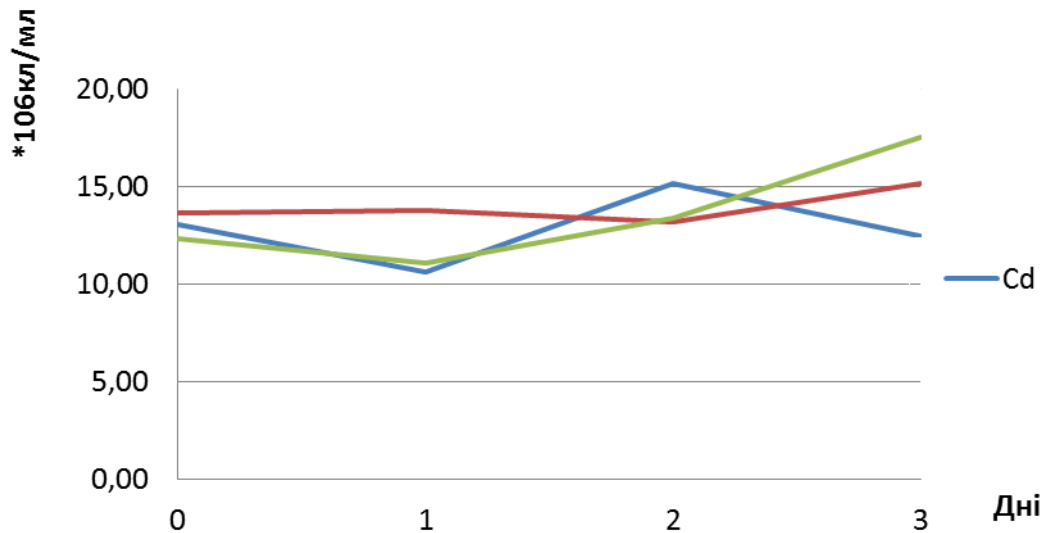


а

б

**Рис 3.8 – *Chlorella vulgaris* в нульовій(а) та третій(б) без навантаження середовища важкими металами (контроль)**

З рисунку 3.9 видно, що всі зразки проходили адаптивний період, і найбільший приріст спостерігається в другий та третій день культивування.



**Рисунок 3.9 – Культивування *Chlorella vulgaris* у розчинах культурального середовища з додаванням кадмію (із загальною концентрацією 0,001 мг/л), свинцю ((із загальною концентрацією 0,03 мг/л) і без навантаження важкими металами (контроль) протягом 3 днів експерименту**

Таблиця 3.2 – Культивування хлорели на розчинах з додатковим навантаженням важкими металами на рівні ГДК та без додавання важких металів.

| Дата  | День культивування | Кількість клітин при культивуванні у розчинах з концентраціями солей (x10 <sup>6</sup> ): |       |          | Температура, °C |
|-------|--------------------|---|-------|----------|-----------------|
|       |                    | Cd  | Pb    | Контроль |                 |
| 09.08 | 0                  | 13,05   | 13,65 | 12,3     | +29° C          |
| 10.08 | 1                  | 10,65   | 13,8  | 11,1     | +28° C          |
| 11.08 | 2                  | 15,15   | 13,2  | 13,35    | +27° C          |
| 12.08 | 3                  | 12,45   | 15,15 | 17,55    | +30° C          |

У зразку з додаванням свинцю спостерігається рівномірний приріст клітин протягом перших двох днів та стрімке зростання на третій, що свідчить про резистентність клітин хлорели до впливу свинцю на рівні ГДК.

Зразок з додаванням кадмію показав різкий приріст клітин на другий день та невелике пригнічення росту на 3, що може бути пов'язано з високою токсичністю кадмію. У контрольному зразку спостерігався стабільний приріст клітин на другий та третій дні. Загалом усі зразки протягом трьох днів культивування на розчинах з додаванням важких металів мікрородості були здатні підтримувати життєдіяльність і не втратили можливості до розмноження.

### 3.2.2 Дослідження резистентності хлорели до впливу важких металів

Для дослідження резистентності хлорели до впливу важких металів та розрахунку біоаккумуляційного фактору, біомаса після експерименту була відцентрифугована, при частоті обертання барабана 1500 об/хв. упродовж 10 хв. Так, вдалося осадити майже 95% біомаси зі збереженням їх життєздатності. Після чого біомаса була висушена при температурі 90°C у сушильній шафі. Біомаса була повністю висушена протягом 3-4 днів. Кількість сухої біомаси представлена у табл. 3.3. Стабілізація водного середовища відбувалась азотною кислотою у співвідношенні 1:100.

Таблиця 3.3 – Вихід сухої біомаси хлорели

| Зразок                | Кількість сухої біомаси, г |
|-----------------------|----------------------------|
| Ch. V. + 0.001 мг/лCd | 0.15                       |
| Ch. V. + 0.03 мг/л Pb | 0.1                        |
| Контроль              | 0.8                        |

Аналіз біомаси на вміст важких металів проводили за методом ICP-MS на базі геохімічної лабораторії ТУ «Фрайберзька гірнична академія». У сучасному методі мас-спектрометрії з індукційно зв'язаною плазмою (ICP-MS) проби вводять у плазму, тому зразки потребують додаткової підготовки.

Проби біомаси розчиняли розчином *aque-regio* (H<sub>2</sub>O, HCl та HF) під впливом температури 200<sup>0</sup>C та тиску (метод *Microwave digestion*). Проби водного середовища особливої підготовки не потребували.

Після отримання результатів ICP-MS аналізу зразків було проведено обчислення результатів та статистична обробка. Біоаккумуляційний фактор розраховували як співвідношення концентрації елемента в біомасі до його концентрації в культуральному розчині. Результати обчислення біоаккумуляційного фактору представлені у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4 - Біоаккумулятивний фактор накопичення кадмію та свинцю біомасою *Chlorella vulgaris*

|               | Cr | Mn | Fe  | Co | Ni  | Cu | Zn  | Sn | Pb  | Cd  |
|---------------|----|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|-----|
| Контроль      | 6  | 27 | 245 | 5  | 88  | 25 | 69  | 40 | 98  | 18  |
| 0,001 мг/л Cd | 23 | 69 | 92  | 6  | 180 | 32 | 298 | 34 | 181 | 79  |
| 0,03 мг/л Pb  | 64 | 62 | 98  | 6  | 10  | 32 | 148 | 59 | 315 | 129 |

Зразки біомаси хлорели з навантаженням важкими металами має більшу концентрація токсичних елементів, зокрема важких металів, у порівнянні із контрольними зразками. За результатами цього експерименту неможливо точно встановити механізм накопичення або сорбції важких металів клітинами мікродоростей, але ми можемо стверджувати, що додаткові концентрації свинцю та кадмію на рівні ГДК стимулює акумуляцію інших токсичних елементів. Так, у дослідних варіантах на фоні додаткового впливу важких металів в біомасі хлорели було виявлено підвищенні концентрації хрому у 3,8 і 10,7 разів відповідно, мангану приблизно у 2,5 і міді у 1,28 разів в обох варіантах, цинку в 4,3 і 2,1 рази, свинцю у 1,8 і 1,3 рази відповідно.

Підвищений вміст заліза в усіх зразках можна пояснити його високим вмістом у водопровідній воді, що використовували для культивування мікродоростей.

Зазначені концентрації важких металів не викликали пригнічення ростових можливостей, що вказує на резистентність клітин *Chlorella vulgaris* до негативного впливу важких металів на рівні ГДК.

### 3.3 Обґрунтування технології

Як вже зазначалось шахтні води мають досить високий вміст важких металів, високу мінералізацію, велику кількість механічних домішок, бактеріальне забруднення, а кислі шахтні води окрім низьких значень рН характеризуються високим вмістом заліза.

Методи очистки вод на вугледобувних підприємствах шахтних вод зумовлені їх фізико-хімічними і технологічними властивостями, а також кліматичними умовами вугільних родовищ. Зазвичай використовується в практиці механічна очистка шахтних вод, а також фізико-хімічна, хімічна, електрохімічна та біологічна очистка.

Перша основна технологічна схема очистки шахтних вод представлена на рисунку 3.10. До складу очисних споруд входять: пісковловлювачі, решітка, первинні та вторинні відстійники, аеротенки для біологічного очищення, УФ-знежаражувачі.

Зазвичай очищення проходить в декілька етапів:

- першим етапом є механічне очищення. Стічні шахтні води проходять через спеціальні сітки, ґрати, решітки, для видалення крупних забруднень;
- потім відбувається осадження частинок забруднення та їх видалення із води;
- далі відстояна вода проходить стадію освітлення з використанням коагулянтів і подається в прес-фільтри;
- далі в залежності від типу забруднень вода подається для подальшого біологічного, хімічного чи фізико-хімічного очищення.

Аналіз літературних даних показав, що система очистки стічних шахтних потребує удосконалення, бо велика частка забруднень, у тому числі

важких металів, потрапляє у природне середовище.

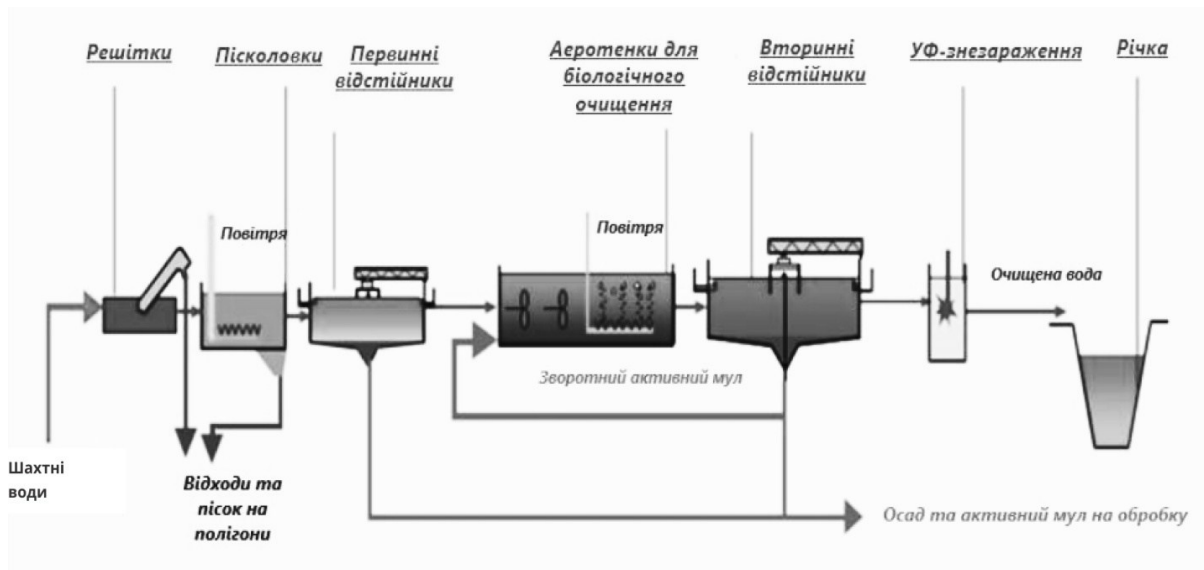


Рис 3.10 – Технологічна схема очистки шахтних вод

Як додаткове доочищення шахтних вод варто застосовувати біоплато з мікроводоростями (рис. 3.11), які здатні поглинати токсичні елементи.

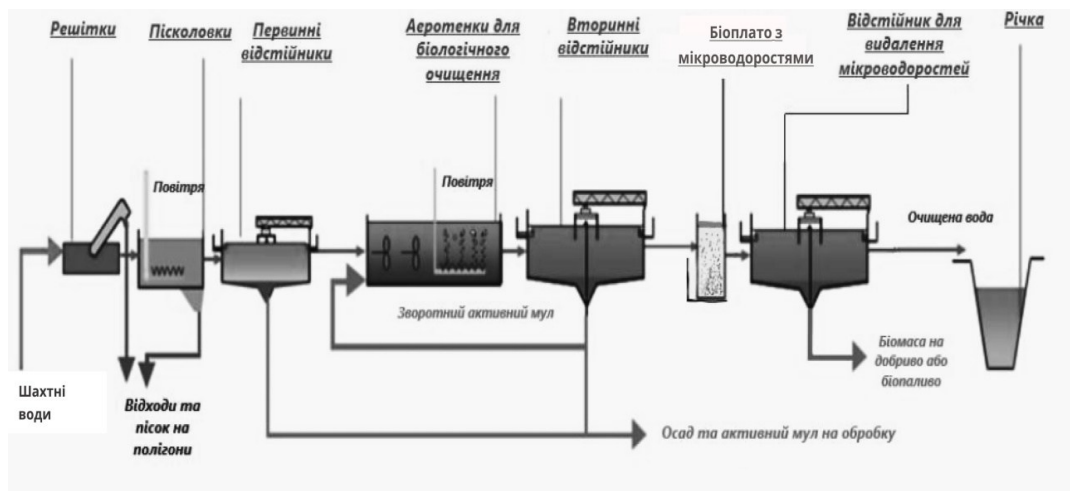


Рис 3.11 – Схема запропонованої технології

Враховуючи отримані експериментальні дані, вважаємо за доцільне використовувати *Chlorella vulgaris* для доочищення стічних шахтних вод від важких металів. Рекомендується використання методу біоплату з додаванням мікроводоростей *Chlorella vulgaris* з щільністю клітин  $20,55 \cdot 10^6$  кл./мл. Даний метод рекомендується використовувати перед етапом, що передує скиданню шахтних вод у природні водойми. Процес доочищення повинен тривати до 3 дб.

## ВИСНОВКИ

В даній кваліфікаційній роботі досліджена можливість використання мікроводоростей *Chlorella vulgaris* для обґрунтування біотехнології зниження вмісту важких металів у стічних шахтних водах. Отримані результати дозволяють зробити наступні висновки:

1. Процеси вуглевидобутку супроводжуються утворенням значних обсягів шахтних вод, які характеризуються високим вмістом важких металів. Концентрація важких металів у шахтних може у 2-4 рази перевищувати ГДК. Понад 90% шахтних вод скидається в гідрографічну мережу і водні об'єкти. Скид вод з високим вмістом важких металів може призвести до змін видового різноманіття водойм, і домінування видів, що є стійкими до впливів важких металів та, як наслідок, зміни структури популяцій та екосистеми в цілому. Це створює додаткову необхідність очищення шахтних вод.

2. В Дніпропетровській області найбільш потерпає від скидів шахтних вод з підвищеним вмістом важких металів р. Самара. У водах цієї річки були виявленні підвищенні концентрації кадмію, нікелю та міді. Стан поверхневих вод р. Самари є значимим для оцінки екологічної ситуації басейну р. Дніпро, який є головною водною артерією України.

3. В лабораторних умовах *Chlorella vulgaris* здатна до досить швидкого приросту біомаси при дотриманні певних умов: сонячне світло, поживні речовини у середовищі та оптимальна температура 25-30 °С.

4. Результати експериментальних даних вирощування *Chlorella vulgaris* на розчинах з додаванням кадмію та свинцю на рівні ГДК свідчать про резистентність хлорели до впливу важких металів. Усі зразки протягом трьох днів культивування на розчинах з додаванням важких металів мікроводорості були здатні підтримувати життєдіяльність і не втратили можливості до розмноження. Також було виявлено, що додаткові концентрації свинцю та кадмію на рівні ГДК стимулює акумуляцію інших токсичних елементів.

5. Запропоноване технологічне рішення щодо використання *Chlorella*

*vulgaris* для зниження мінералізації шахтних вод. Рекомендується додаткове доочищення шахтних вод біотехнологічним методом, а саме біоплато з додаванням мікроводоростей *Chlorella vulgaris* у концентрації  $20,55 \cdot 10^6$  кл./мл, на етапі, що передує скиданню шахтних вод до природних водойм. Процес доочищення повинен тривати 1-2 доби.

6. Для безпечної для життя роботи в навчально-дослідній лабораторії необхідно дотримувати вимоги при роботі з хімічними реагентами, електричними приладами та біооб'єктами, зокрема мікроорганізмами. Для безпечної роботи на біоінженерних спорудах слід дотримуватися основних правил техніки безпеки та охорони праці.

7. Розраховано капітальні витрати на запропоноване обладнання, витрати на електроенергію, оплату праці, закупку водоростей, а також економічну ефективність запропонованого технологічного рішення.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Вплив важких металів на гідробіонтів. *Нова екологія*: веб-сайт. URL: <http://www.novaecologia.org/voecos-522-1.html>
2. Іванова В. П. Концентрування та вилучення іонів важких металів із води: дисертація, к-та тех. наук: 21.06.01. Київ. 2019. 236 с.
3. Мазурак О. Т., Лозовицька Т.М., Лисак Г.А. Біогеотехнології доочищення шахтних вод від важких металів. *Науковий вісник НЛТУ України*. Вип. 19.3 Львів. – 2009. 29 с.
4. Рудько Г.І., Гошовський С.В. Екологічна безпека техноприродних геосистем (наукові і методичні основи): Наукова монографія / За редакцією Г.І. Рудька – К.: ЗАТ «Нічлава». 2006. – 464 с.
5. Монгайт, И.Л. Очистка шахтных вод / И.Л. Монгайт, К.Д. Текиниди, Г.И. Николадзе - М.: Недра, 1978. - 174 с.
6. Алекин, О.А. Основы гидрохимии. -Л.: Гидрометеиздат, 1970. – 208 с
7. Кульский, Л.А. Теоретичні основи і технологія кондиціонування води. - К.: Наук, думка, 1980. - 564 с.
8. Шамі Пурі. Видобуток вугілля в Україні: як покращити вплив на довкілля. «Вода та довкілля» VII міжнародного водного форуму «Аqua Ukraine – 2009»: матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (м. Київ, 10–13 листоп. 2009 р.). – К.: Міністерство охорони навколишнього природного середовища України, 2009. – С. 119.
9. Регіональна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Дніпропетровській області в 2020 р [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://adm.dp.gov.ua> 1
10. Кроик А. А. Гидрогеохимические исследования процессов миграции и накопления тяжелых металлов в водных экосистемах // IV Всеукраинская научно практическая конференция «Вода – проблемы и решения». Материалы конференции. – Днепропетровск.: Гамалия, 1998. – С. 239.
11. Яковлев Є. О., Сплодитель А. О., Чумаченко С. М. Оцінка

еколого-геохімічного стану поверхневих вод донбасу. *Український гідрометеорологічний журнал*, 2021, № 28.

12. Sarabjeet Singh Ahluwalia. Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals of wastewater [Мікробна і рослинна біомаса для видалення важких металів стічних вод] / Singh Ahluwalia Sarabjeet, Goyal Dinesh // *Bioresource Technology* . – 2007. – № 98. – P. 2243 – 2257.

13. Параняк Р. П. Шляхи надходження важких металів в довкілля та їх вплив на живі організми / Р. П. Параняк, Л. П. Васильцева, Х. І. Макух // *Біологія тварин*. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 83–89.

14. Важкі метали. *Науково-популярний блог*: веб-сайт. URL: <http://www.npblog.com.ua/index.php/ekologiya/vazhki-metali.html>

15. Кулікова Д.В. Визначення рівня екологічної безпеки поверхневих водойм. *Екологічна безпека та природокористування*, № 3–4, 2016.

16. Кулікова Д.В. Оцінка якісного стану водних об'єктів, що перебувають під впливом скиду шахтних вод *Екологічні науки* № 1(24). Т. 1 2019.

17. В. Я. Ціпух, Л. А. Саблій. Аналіз методів очищення стічних вод від іонів важких металів. *Екологічні біотехнології та біоенергетика* : матеріали науково-практичного семінару присвяченого 120-річчю КПІ ім. Ігоря Сікорського. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2018. С. 87–91.

18. Большаніна С. Б. Очищення стічних вод гальванічних виробництв сорбційними методами / С. Б. Большаніна, Г. М. Гурець, Д. С. Балабуха, Д. В. Міляєва // *Екологічна безпека*. - 2014. - Вип. 1. - С. 114-118.

19. Яковлев Е.А., Сляднев В.А., Юркова Н.А. Шахтные воды – эколого-гидрогеологический фактор горнопромышленных регионов // *Уголь Украины: журнал*. – 1998. – № 9. – С. 11-14

20. Россінський Р.М., Россінський В.М., Россінський І.М. Підземні води ліквідованих вугільних шахт. Властивості й вплив на навколишнє середовище, перспективи очистки підземних вод // *Зб. наук. праць*. – Донецьк : Вид-во ДонНАБА, 2005. – Вип. 2(50). – С. 32-36.

21. Nessner V., Esposito E. Biotechnological strategies applied to the

decontamination of soils polluted with heavy metals // *Biotechnology Advances*. – 2009 – doi: 10.1016/j.biotechadv.09.002.

22. Голубець М.А. Актуальні питання сучасної екології. - К.: АСК, 2001. - 153 с

23. Lopes C., Herva M., Franco-Uria A., Roca E. Inventory of heavy metal content in organic waste applied as fertilizer in agriculture: evaluating the risk of transfer into the food chain // *Environ Sei Pollut Res Int*. – 2011. – Vol. 18, № 6. – P. 918–939.

24. Fernandes V.C., Albergaria J.T. Dual augmentation for aerobic bioremediation of MTBE and TCE pollution in heavy metal-contaminated soil // *Biodegradation* — 2009 — 20, № 3 — P. 75—82.

25. Біотехнології в екології : навч. посібник / А.І. Горова, С.М. Лисицька, Б 63 А.В. Павличенко, Т.В. Скворцова. – Д. : Національний гірничий університет, 2012. – 184 с.

26. Шарило Ю.Є. Використання водоростей виду *Chlorophyta* як біологічний метод очищення водойм /Шарило Ю.Є 1 Деренько О.О. Дюдяєва О.А. // Бюджетна установа «Методично-технологічний центр з аквакультури».

27. Carl Safi, Bachar Zebib, Othmane Merah, Pierre-Yves Pontalier, Carlos VacaGarcia. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*. *Renewable and Sustainable Energy*. 2014. № 35. С. 265–278.

28. Золотарьова О. К. Перспективи використання мікрowodоростей у біотехнології : монографія. К. : Альтерпрес, 2008. 235 с.

29. Аужанова Н.Б. Морфологическая и систематическая характеристика хлореллы. Ее производство и применение. *Научный вестник*. 2014. №1. С.113-126.

30. Takashi Furihata, Supreeya Pomprasirt. Characteristics of Sulfite Transport by *Chlorella vulgaris*. *Plant Cell Physiol*. 1997. 38(4). P.398-403.

31. Latala A. Effects of salinity, temperature and light on the growth and morphology of green planktonic algae. *OCEANOLOGIA*. 1991. № 31. С.119-138.

32. Alondra A. Cortés, Sebastián Sánchez-Fortún. Effects of pH on the growth rate exhibited of the wild-type and Cd-resistant *Dictyosphaerium chlorelloides* strains. *Limnetica*. 2018. № 37(2). С. 229-238.

33. Daliry S., Hallajisani A., Mohammadi Roshandeh J. Investigation of optimal condition for *Chlorella vulgaris* microalgae growth. *Global J. Environ. Sci. Manage.* 2017. №3(2). С. 217-230.

34. Mostafa M. El-Sheekh. The effect of different growth conditions on the biomass and chemical constituents of *Chlorella vulgaris*. *Egypt. J. Exp. Biol.* 2018. № 14(1). С. 121 – 131.

35. Jamal E., Luturmas A. Some eco-physiological responses of *Chlorella vulgaris* culture in different environmental conditions. *AACL Bioflux*. Volume 9, Issue 5. С. 1030-1035

36. Паршикова Т.В., Третьяков В.О., Пацко О.В. Застосування мікроелементів для оптимізації мінерального живлення за промислового культивування мікроскопічних водоростей. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2010. Т.42 №5. С. 403-413.

37. Упитис В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей: монография. Рига: Зинатне, 1983. 240 с.

38. Sh.shaishow and Coworkers. Biohydrogen from algae: fuel of the future. *Int.Res.J. of Environment Sci.* 2013, V.2 (4). 44-47.

39. K.O. Nwanya, P.A.C. Okoye and V.I.E. Ajiwe: Biodiesel Potentials of *Chlorella vulgaris* Oil Nigerian *Research Journal of Chemical Sciences* Volume 9, Issue 2, 2021.

40. Yunes Panahi, Behrad Darvishi *Chlorella vulgaris*: A Multifunctional Dietary Supplement with Diverse Medicinal Properties. *Current Pharmaceutical Design* Volume 22, Issue 2, 2016 P. 164–173.

41. Samira Yarmohammadi, Reza Hosseini-Ghatar. Effect of *Chlorella vulgaris* on Liver Function Biomarkers: a Systematic Review and Meta-Analysis . *Clin Nutr Res*. 2021 Jan; Volume 10(1): P.83-94.

42. Nurhazirah Zainul Azlan, Yasmin Anum Mohd Yusof. *Chlorella*

*vulgaris* Improves the Regenerative Capacity of Young and Senescent Myoblasts and Promotes Muscle Regeneration. *oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2019, 16 pages, 2019.

43. Spolaore, P. Commercial applications of microalgae. *Biosci. Bioeng.* 2006. V. 101, N. 2. P. 87–96.

44. Я. Барта. Нетрадиционные корма в рационах сельскохозяйственных животных / Я. Барта, Г. Бергнер, Я. Бучко и др.; Пер. с словацкого и предисл. Э. Г. Филипович. – М. Колос, – 1984. – 272 с.

45. M. A. Borowitzka and N. R. Moheimani, “Algae for biofuels and energy,” *Algae for Biofuels and Energy*, pp. 1–288, 2013

46. Cátia F. Martins, José M. Pestana. Effects of *Chlorella vulgaris* as a Feed Ingredient on the Quality and Nutritional Value of Weaned Piglets’ Meat Foods. 2021 Jun; 10(6): 1155.

47. Maria Filomena de Jesus Raposo. *Chlorella vulgaris* as Soil Amendment: Influence of Encapsulation and Enrichment with Rhizobacteria. *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 13, No. 5, 2011.

48. Timea Hajnal-jafari,\* Vladimira Seman, Dragana Stamenov. Effect of *Chlorella vulgaris* on Growth and Photosynthetic Pigment Content in Swiss Chard (*Beta vulgaris L. subsp. cicla*). *Pol J Microbiol.* 2020 Jun; 69(2): 235–238.

49. Макарова Е. И., Отурина И. П., Сидякин А. И. Прикладные аспекты применения микроводорослей – обитателей водных экосистем. *Экосистемы, их оптимизация и охрана.* 2009. Вып. 20. С. 120–133.

50. М. Л. Калайда, М. Ф. Хамитова, С. И. Новотчинов. Результаты альголизации сточных вод, загрязненных органическими веществами, одноклеточной водорослью *Chlorella vulgaris*. Часть 1. Изменение химического показателя кислорода при альголизации вод хлореллой. Казань. 2015. – С. 2-5

51. Моисеев И., Тарасов В., Трусков Л. Эволюция в биоэнергетике. *Время водоросле. Альтернативная энергетика.* 2009. № 12. С. 24–29.

52. *Space Colonies*. Permanent. Retrieved 3 November 2012. «Russian

CELSS Studies».

53. Б.К. Заядан, А.К. Садвакасова, Д.К. Кирбаева, К. Болатхан, М. Салех, М. Бауенова. Безотходная технология биологической очистки сточных вод с помощью микроводорослей. Алматы. 2013. – С. 2-6.

54. Muhammad Mubashar, Muhammad Naveed, Adnan Mustafa. Experimental Investigation of *Chlorella vulgaris* and *Enterobacter* sp. MN17 for Decolorization and Removal of Heavy Metals from Textile Wastewater. *Water* 2020, 12(11), 3034

55. Rita Sulistya, Riza Nuravivah. Potential Of Microalgae *Chlorella vulgaris* As Bioremediation Agents of Heavy Metal Pb ( Lead ) On Culture Media. *Web of Conferences* 31, 05010 (2018).

56. Про затвердження Правил охорони праці під час експлуатації водопровідно-каналізаційних споруд [Електронний ресурс]. – 2007. – Режим доступу до ресурсу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1404-04>

57. В. І. Голінько [та ін.] Моніторинг умов праці: підруч. / Держ. вищ. навч. закл. «Нац. гірн. ун-т». Дніпропетровськ: НГУ, 2014. 230 с.

58. НПАОП 0.00-7.11-12. «Загальні вимоги стосовно забезпечення роботодавцями охорони праці працівників».

59. Jesus Alberto Coronado-Reyes, Juan Alfonso Salazar-Torres. *Chlorella Vulgaris*, microalgae important to be used in Biotechnology: a review. *Food Science and Technology*, Campinas, Volume 42, e37320, 2022.

60. Методичні вказівки до практичного заняття «Розрахунок захисного заземлення» / Голінько В.І., Фрундін В.С., Лебедев Я.Я. та ін. – Дніпропетровськ: НГА України, 2002. - 17 с.

61. Одарченко М. С. Основи охорони праці: підручник / М.С. Одарченко. – Х.: Издат, 2017. – 334 с.

62. ДБН В.1.1.7-2016 «Пожежна безпека об'єктів будівництва».

63. Кодекс цивільного захисту України № 5403-VI 02.10.2012.